COUNTWAY LIBRARY
HC 6EBA

RG'S

BOSTON
MEDICAL LIBRARY
8 THE FENWAY

NAUNYN-SCHMIEDEBERGS

ARCHIV

FÜR

EXPERIMENTELLE PATHOLOGIE

UND

PHARMAKOLOGIE

UNTER MITWIRKUNG VON FACHGENOSSEN

HERAUSGEGEBEN VON

DR. L. KREHL † UND DR. W. STRAUB

EMER. PROF. DER SPEZIELLEN PATHOLOGIE UND THERAPIE IN HEIDELBERG

PROF. DER PHARMAKOLOGIE IN MÜNCHEN

199. BAND

MIT 191 TEXTABBILDUNGEN (262 EINZELBILDERN)

BERLIN

SPRINGER-VERLAG

1942

BOSTON
APR 4 1949
MEDICAL LIBRARY

Printed in Germany

CATALOGUED
APR 4 1949
A. B.

Inhalt des 199. Bandes

Seite

Andersen, A. Harrestrup, Knud O. Møller und **Margrethe H. Simesen,** Über die Zustandsform von Sulfathiazol im Blut, Urin und in der Cerebrospinalflüssigkeit 528

Andersen, A. Harrestrup, und **M. H. Simesen,** Über den Übergang von Sulfathiazol, Sulfapyridin und Sulfamethylthiazol von der Mutter zum Fötus. Mit 3 Textabbildungen 521

Balzer, R., s. P. Stern.

Bauereisen, Erich, Die Kreislaufwirkung des Benzylimidazolins (Priscol). Mit 2 Textabbildungen 161

Benigno, P., Die antisulfamidische Wirkung von dem Sulfanilamid chemisch verwandten Stoffen 265

Bode, J., s. Walther Straub.

Bonsmann, M. R., Diureseversuche an der Maus. 8. Mitteilung 376

Born, H. J., s. J. Gerlach.

Brücke, Fr. v., und **R. Knebel.** Über die Dynamik der Harnblasenmuskulatur. Mit 7 Textabbildungen 465

Centenera, D., s. J. Ruiz-Gijon.

Christensen, B. Chr., und **V. Larsen,** Über die Wirkung einiger sympathicotropen Amine (Ephedrin, β-Phenylisopropylamin usw.) auf die Blase des Kaninchens. Mit 6 Textabbildungen 132

Credner, Karl, s. Peter Holtz.

Dybing, Fred, s. Ottar Dybing.

Dybing, Ottar, und **Fred Dybing,** Der Antagonismus Chloralose-Cardiazol . 435

Edam, K., s. R. Weigmann.

Eichler, Lore, s. Oskar Eichler.

Eichler, Oskar, und **Lore Eichler,** Über die Ausscheidung von anorganischen Ionen bei Fröschen. Mit 3 Textabbildungen 4

Seite

Eichler, Oskar, und **Lore Eichler,** Wirkung von Kochsalz in verschiedenen Konzentrationen auf die Ausscheidung anorganischer Substanzen beim Frosch. Mit 4 Textabbildungen 21

Eichler, Oskar, und **Lore Eichler,** Wirkung von Natriumjodid in verschiedenen Konzentrationen auf die Ausscheidung anorganischer Substanzen beim Frosch. Mit 6 Textabbildungen 39

Eichler, Oskar, und **Lore Eichler.** Vergleich zwischen NaCl und NaJ in Ausscheidung und Wirkung auf die Abgabe anderer anorganischer Substanzen beim Frosch. Mit 4 Textabbildungen 55

Eichler, Oskar, s. Hermann Euler.

Enders, Alfred, Der Einfluß des Insulins auf die Mast nach Hunger 606

Engbäk, Lise, A. Juul und **Knud O. Møller,** Über die Wirkung von einigen Thiobarbitursäurederivaten auf Blutdruck und Respiration bei verschiedenen quantitativ bestimmten Narkosegraden. Bestimmung der Eliminationsgeschwindigkeit und Narkosebreite. Mit 3 Textabbildungen 438

Euler, Hermann, und **Oskar Eichler,** Über die Wirkung von Fluor in organischer Bindung auf das Zahnsystem der Ratte. Mit 5 Textabbildungen 179

Ergang, Margarete, s. Werner Koll.

Friedrichs, H., s. S. Thaddea.

Gad, Inger, Die Diäthyl-thiobarbitursäure. Ihre chemischen Eigenschaften und ihr Verhalten im Organismus. Mit 3 Textabbildungen 449

Garbe, Johannes, s. Werner Kollath.

Geppert, M. P., s. F. Hildebrandt.

Gerlach, J., P. M. Wolf und **H. J. Born,** Zur Methodik der Kreislaufzeitbestimmung beim Menschen. Mit 4 Textabbildungen 83

Giesecke, Lotte, s. Werner Kollath.

Gropp, Wolfgang, Die Wirkung von Adeninsulfat, Muskeladenylsäure und Adenosintriphosphorsäure im Froschdurchströmungspräparat und auf den Blutdruck des Kaninchens. Mit 5 Textabbildungen 216

Haas, Hans T. A., Über die Beeinflussung des Histamingehalts der Haut durch Reizstoffe. II. Mitteilung 637

Haas, Hans T. A., Über die Beeinflussung des Histamingehalts der Haut durch Reizstoffe. III. Mitteilung 656

Harangozó-Oroszy, M. v., s. B. v. Issekutz.

Hasík, A., s. F. Švec.

Seite

Heubner, Wolfgang, und **Margarete Stuhlmann,** Studien über Methämoglobinbildung. XXI. Mitteilung: Rückbildung im Aderlaßblute. Mit 2 Textabbildungen 1

Hildebrandt, F., Über die Zeit/Menge-Beziehungen bei der Auswertung von Strophanthin und Digitoxin an der Katze. Mit einem Anhang: Mathematische Deutung der Ergebnisse. Von M. P. Geppert. Mit 3 Textabbildungen 568

Hindemith, Helmut, Orientierende Versuche über die Einwirkung des Coffeins auf den Fettstoffwechsel der Leber 167

Hofmann, H., Über die Resorption von Calciumsalzen aus dem Magen-Darmkanal und ihre pharmakologische Beeinflussung. Mit 5 Textabbildungen 618

Hofmann, H., Über die Beeinflussung des anaphylaktischen Schocks durch Vitamin C und Nebennierenrindenhormon 631

Hofmann, H., Über die pharmakologische Beeinflussung des anaphylaktischen Schocks durch Narkotica und Analeptica. Mit 2 Textabbildungen . . 664

Holtz, Peter, und **Karl Credner,** unter Mitarbeit von **Christel Strübing,** Über das Vorkommen der Dopadecarboxylase im Pankreas. Mit 6 Textabbildungen (8 Einzelbildern) 145

Huf, Ernst, Der Wirksamkeitsvergleich zweier chemisch verschiedener Östrogene. (Östradiolbenzoat und Dioxydiäthylstilben-Dipropionat.) Mit 2 Textabbildungen 333

Issekutz, B. v., und **M. v. Harangozó-Oroszy,** Über Beeinflussung der Wirkung von Adrenalin auf den Gasstoffwechsel durch die Schilddrüse und Sympathicolytica 292

Issekutz, B. v., und **B. v. Issekutz jr.,** Einfache Apparate zur Messung des Sauerstoff-Verbrauches von Versuchstieren. Mit 2 Textabbildungen 306

Issekutz junior, Béla von, Über die Wirkung der Gefäßmittel auf den Kreislauf der Extremität. Mit 6 Textabbildungen 233

Issekutz jr., B. v., s. B. v. Issekutz.

Ivančević, I., und **P. Stern,** Über die Auslöschung der Adrenalinwirkung durch Ferro-Ion. Mit 2 Textabbildungen 153

Jeney, A. v., I. Mihalik und **J. W. Uri,** Pharmakologische Wirkung des auf fermentativem Wege und des synthetisch gewonnenen glycerinphosphorsauren Cholinesters. Mit 11 Textabbildungen (39 Einzelbildern) 99

Juul, A., s. Lise Engbäk.

Seite

Kjems, H., und **K. Pedersen-Bjergaard**, Choriongonadotropin und Anaphylaxie in vivo 188

Knebel, R., s. Fr. v. Brücke.

Köhns, Th., s. S. Thaddea.

Koll, Werner, und **Margarete Ergang**, Studien über den Antagonismus von Narkotica und Analeptica am Zentralnervensystem. II. Mit 5 Textabbildungen (18 Einzelbildern) 577

Kollath, Werner, unter Mitarbeit von **Johannes Garbe, Eva-Dora Schröder, Gustav Schunk** und **Emmy Thierfelder**, Wachstum und Zellersatz in der Vitaminforschung. XVI. Mitteilung: Rachitis, Prärachitis und ihre Ursachen. Mit 19 Textabbildungen 113

Kollath, Werner, unter Mitarbeit von **Lotte Giesecke**, Wachstum und Zellersatz in der Vitaminforschung. 17. Mitteilung: Antikörperbildung bei Vitamin- und Wuchsstoffmangel. Mit 2 Textabbildungen 312

Kunz, Günther, Studien über Methämoglobinbildung. XXII. Mitteilung: Vergiftung von Meerschweinchen mit m-Dinitrobenzol. Mit 4 Textabbildungen 508

Larsen, V., s. B. Chr. Christensen.

Lendle, L., und **H. Ruppert**, Über Isolobinin, ein Hauptalkaloid der Lobeliadroge 478

Lissák, K., s. J. Pásztor.

Marquardt, Peter, Über blutdrucksenkende Wirkungen beim Abbau des Adrenalins als eine allgemeine Eigenschaft der Phenolgrundskelette. Mit 5 Textabbildungen 554

Martin, J., s. J. Pásztor.

Mihalik, I., s. A. v. Jeney.

Møller, Knud O., s. A. Harrestrup Andersen.

Møller, Knud O., s. Lise Engbäk.

Neumann, W., und **R. Walther**, Beeinflussung der Auswertung von Digitalisstoffen durch Alkohol (Versuche mit Gitoxigenin und Gitoxin). Mit 1 Textabbildung 412

Pásztor, J., K. Lissák und **J. Martin**, Untersuchungen am Blutbild total sympathektomierter Katzen 228

Pedersen-Bjergaard, K., s. H. Kjems.

Seite

Pellmont, Béla, Vergleichende Untersuchungen über die Wirkungen von Coramin, Coffein und Pervitin auf psychische und physische Leistung des ermüdeten und nichtermüdeten Menschen. Mit 5 Textabbildungen 274

Pommer, Charlotte, Über die Wirkung einiger Azulene bei Entzündungen. Mit 1 Textabbildung 74

Raymond-Hamet, Weitere pharmakologische Untersuchungen über Akuammin. Zusammenhang zwischen lokalanästhesierender Wirkung und Steigerung der Adrenalinwirksamkeit. Mit 9 Textabbildungen (12 Einzelbildern) 399

Riechert, Willi, und **Else Schmid**, Über die Spezifität der Cholinesterase. Mit 6 Textabbildungen 66

Riesser, Otto, Über die Wirkung der Ernährungsart auf die Insulin-Schockempfindlichkeit normaler und hypophysenloser Ratten und über den Einfluß des Ernährungszustands auf die Aktivität der innersekretorischen Drüsen 196

Ruiz-Gijon, J., und **D. Centenera**, Die Wirkung der Chinin-Camphosulfosäure auf das Froschherz. Mit 13 Textabbildungen (37 Einzelbildern) . . . 89

Ruppert, Hans, Über eine tachyphylaktische Wirkung von Isolobinin und Nikotin am Zentralnervensystem 497

Ruppert, H., s. L. Lendle.

Schmid, Else, s. Willi Riechert.

Schröder, Eva-Dora, s. Werner Kollath.

Schunk, Gustav, s. Werner Kollath.

Simesen, M. H., s. A. Harrestrup Andersen.

Stern, Pavao, Über die pharmakologische Untersuchung von 4-Dimethylamino-1-phenyl-piperidin und verwandten Verbindungen. Mit 7 Textabbildungen 251

Stern, P., und **R. Balzer**, Beitrag zur Kenntnis der Wirkung herzaktiver Glykoside 421

Stern, P., s. I. Ivančević.

Straub, Walther, mit **E. Triendl** und **J. Bode**, Über Zeit/Menge-Beziehungen bei der Digitalisauswertung am Meerschweinchen. II. Mitteilung: Versuche mit Reinsubstanzen. Mit 4 Textabbildungen 427

Strübing, Christel, s. Peter Holtz.

Stuhlmann, Margarete, s. Wolfgang Heubner.

Seite

Švec, F., und **A. Hasík**, Die enterale Wirkung von Digitoxin und ein Beitrag zu seiner Kumulation. Mit 1 Textabbildung 387

Tangl, Harald v., Über die Wirkung von Arsen auf das Knochenwachstum. Mit 3 Textabbildungen 561

Thaddea, S., H. Friedrichs und **Th. Köhns**, Die Wirkung des Veritols und anderer Adrenalin-Ephedrinkörper auf den Kohlehydratstoffwechsel 642

Thierfelder, Emmy, s. Werner Kollath.

Triendl, E., s. Walther Straub.

Urban, Gerhart, Über experimentelle Silber- und Goldverfärbungen der Haut. Mit 4 Textabbildungen (5 Einzelbildern) 345

Uri, J. W., s. A. v. Jeney.

Walther, R., s. W. Neumann.

Weigmann, R., und **K. Edam**, Die Wirkung der Natriumsalze der Halogenessigsäuren auf die Zuckungshöhen und Kontrakturen der Froschsartorien. Mit 5 Textabbildungen 536

Wolf, P. M., s. J. Gerlach.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Studien über Methämoglobinbildung.

XXI. Mitteilung: Rückbildung im Aderlaßblute.

Von

Wolfgang Heubner und Margarete Stuhlmann.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 15. November 1941.)

Bei verschiedenen Untersuchungen in unserem Institut war aufgefallen, daß die Messung des Methämoglobins im Blute vergifteter Tiere geringere Werte ergab, wenn zwischen Blutentnahme und Messung längere Zeit

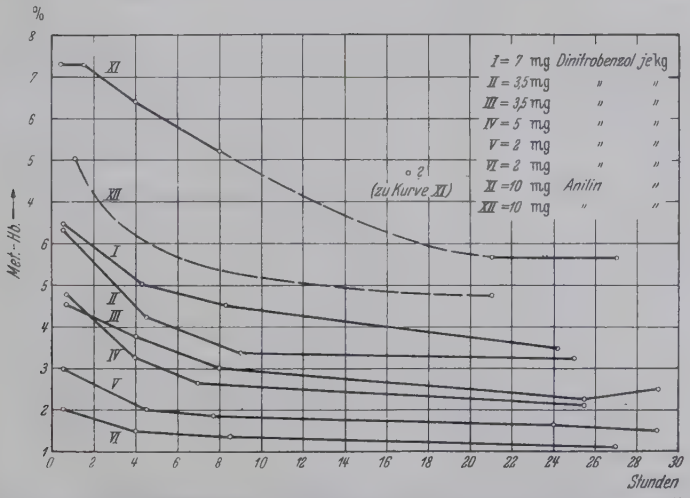


Abb. 1. Abfall des Methämoglobins (in Absolutprozenten) im stehenden Blute. (Die Kurven XI und XII wurden wegen fehlender oder zweifelhafter Werte durch Strichelung willkürlich ergänzt.)

verstrichen war. Es schien aus methodischen Gründen wünschenswert, diese Erscheinung systematisch zu verfolgen.

Deshalb wurde eine Anzahl von Katzen am Abend mit Dosen von 2–10 mg m-Dinitrobenzol je kg in öliger Lösung subcutan behandelt und ihnen am nächsten Morgen Blut entnommen, dessen Methämoglobingehalt (nach Havemann, Jung und v. Issekutz[1]) sofort, wie zu verschiedenen Zeiten später bestimmt wurde. Dasselbe geschah an zwei

[1] Havemann, Jung u. v. Issekutz: Biochem. Z. **301**, 105 (1939).

weiteren Tieren 4 Stunden nach Injektion von 10 mg Anilin je kg in wässeriger Lösung. Die Ergebnisse lassen sich mit einem Blick aus den Kurventafeln der Abb. 1 und 2 ablesen: Regelmäßig fällt der Gehalt des Blutes an Methämoglobin im Laufe der ersten Stunden auf einen niedrigeren Wert ab, und zwar am schnellsten anfangs, allmählich langsamer bis etwa zur 8. Stunde; dann beträgt der Wert oft nur zwei Drittel, zuweilen nur die Hälfte des intra vitam vorhandenen Gehaltes. Dieser Wert bleibt dann praktisch konstant, bis etwa Bakterienwirkung unübersichtliche Verhältnisse schafft. Unter schonenden Bedingungen fanden wir nach ungefähr 24 Stunden stets nahezu den gleichen Wert wie nach 7—9 Stunden.

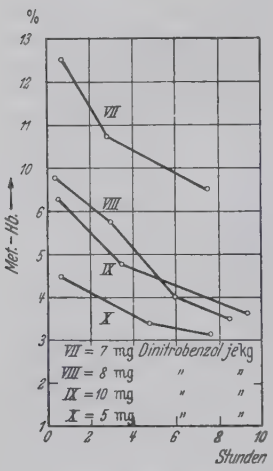


Abb. 2. (Wie Abb. 1.)

Auch die auf Abb. 2 verzeichneten Versuche wurden so lange fortgesetzt, nur zwecks Raumersparnis die späteren Befunde fortgelassen.

Sofern der Abfall des Methämoglobins in den ersten Stunden nach der Blutentnahme nicht beachtet, also etwa Patientenblut erst verspätet untersucht wird, kann es geschehen, daß bei der bisher vor allem klinisch üblichen Beobachtung mit dem Taschenspektroskop eine erhebliche Methämoglobinmenge ganz übersehen wird, die bei den Kranken tatsächlich vorhanden war. Natürlich gilt das gleiche für quantitative Tierversuche: wir selbst ließen früher, als wir das Methämoglobin noch nicht colorimetrisch, sondern gasanalytisch ermittelten, gern eine Anzahl Proben für Reihenbestimmungen mit der mikromanometrischen Methode nach Barcroft-Warburg zusammenkommen, weil das natürlich manche Bequemlichkeit bietet; aber gerade dabei wurden wir auf die Erscheinung des Methämoglobinschwundes aufmerksam, die freilich grundsätzlich schon aus den Untersuchungen von Sakurai[2] bekannt war.

Dieser versetzte Blut in vitro mit Amylnitrit und maß die Sauerstoffkapazität in Abständen von je 24 Stunden; dabei fand er einen Anstieg gegen die Norm hin, der sich — im Gegensatz zu unseren Ergebnissen — auch noch am zweiten Tage fortsetzen konnte.

Bekanntlich tritt bei längerem Stehen im normalen Blute allmählich eine Vermehrung des Methämoglobins auf, das ja bei Gegenwart von Luftsauerstoff die beständigere Form des Blutfarbstoffs darstellt. Nach den geschilderten Ergebnissen müssen also im Blut selbst Substanzen vorhanden sein, die Methämoglobin zu Hämoglobin reduzieren.

Die absolute Größe dieser Reduktion ist in unseren — freilich noch nicht sehr zahlreichen — Versuchen nicht konstant. Vielmehr läuft diese

[2] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **107**, 287 (1925).

Größe unverkennbar der Menge des vorhandenen Methämoglobins parallel. Für den jeweils erreichten Endwert gilt das gleiche, ohne daß jedoch das Methämoglobin auf die normalen Ausgangswerte zurückkehrte.

An normalen Katzen hat schon v. Issekutz[3] den Methämoglobingehalt bestimmt und 0,7—1,8, im Mittel 1,0% gefunden. Unsere Bestimmungen bei den Katzen I, III, VI, VII, X, XI ergaben 0,4—1,0%, nur bei Katze XII 1,8%, im Gesamtmittel von 7 Tieren 0,9%. Demgegenüber waren die niedrigsten Endwerte nach den Vergiftungen bei den Katzen V und VI 1,6 und 1,1%; bei Katze VI hatte der Normalwert vor der Vergiftung 0,5% betragen (bei Nr. V war er nicht bestimmt worden).

Der vorliegende Tatbestand ließe sich durch die Annahme deuten, daß im Blute eine begrenzte Menge reduzierenden Materials vorhanden ist, mit dem das Methämoglobin reagiert, daß aber mit dieser Reaktion die zweite Reaktion in Konkurrenz tritt, die unverändertes Hämoglobin durch Luftsauerstoff in Methämoglobin zu verwandeln strebt.

Zusammenfassung.

Methämoglobinhaltiges Blut vermindert in vitro seinen Gehalt an Methämoglobin erheblich, d. h. auf zwei Drittel, ja die Hälfte des ursprünglichen Wertes; am schnellsten erfolgt dieser Methämoglobinschwund in den ersten Stunden. Untersuchungen auf Methämoglobin müssen also unmittelbar nach der Blutentnahme erfolgen.

[3] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 567 (1939).

Aus dem Institut für Pharmakologie und experimentelle Therapie der Universität Breslau. (Direktor: Prof. Dr. O. Eichler.)

Über die Ausscheidung von anorganischen Ionen bei Fröschen*.

Von

Oskar Eichler und Lore Eichler.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 25. November 1941.)

Das Thema des Mineralstoffwechsels wurde beim Warmblüter schon außerordentlich häufig bearbeitet, wobei die Frage der Diäten im Vordergrund stand. Meist wurde nur ein Gesichtspunkt berücksichtigt, z. B. der Ca-P-Stoffwechsel beim Problem der Rachitis, Na-K-Stoffwechsel bei der Wirkung des Nebennierenrindenhormons, Chlorid und Wasser bei Hypophyse und Schilddrüse usw. Mit pharmakologischer Fragestellung hat neuerdings Vollmer[1,12] ausgedehnte Versuche an Ratten begonnen.

Eine besonders hervorragende und vielseitige Untersuchung am Menschen verdanken wir Gamble, Ross und Tisdall[2] (siehe dazu Heubner[3]). Eine gewisse Erleichterung für die Auswertung war in diesen Versuchen dadurch gegeben, daß der Hungerstoffwechsel zur Diskussion stand, wobei also Fragen der Diät nicht komplizierend eingriffen. Man sollte meinen, daß dieser Vorteil beim Frosch im Winter auch erreichbar sein könnte. Damit ergäbe sich die Möglichkeit, unter einfachen Verhältnissen die Folgezustände zu analysieren, die nach Gaben von Salzen im Organismus des Frosches eintreten. Dieses Vorhaben entwickelte sich aus dem Plan[4] einer abwägenden Analyse der in der Hofmeisterschen Reihe sich findenden Anionen. Eine solche Analyse müßte nicht nur wegen der definierten physikochemischen Wirkung dieser Anionen reizen, sondern auch wegen der vorwiegenden Einwirkung auf die Muskulatur. Diese war unzählige Male untersucht worden, aber fast ausschließlich außerhalb des Organismus, so daß die im Verbande des Organismus zwangsläufig sich entwickelnden Regulationen entgehen mußten. Diese erschienen aber besonders wichtig, als sich bestimmte Korrelationen in der Grund-

* Die Versuche fanden statt im Winter 1932 33 und wurden ermöglicht durch eine Beihilfe der damaligen Notgemeinschaft der deutschen Wissenschaft.

[1] Vollmer, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 474 (1939); **194**, 573 (1940) u. **197**, 611 (1941). — [2] Gamble, J. L., G. S. Ross u. F. F. Tisdall: J. biol. Chem. (Am.) **57**, 633 (1923). — [3] Heubner, W.: in Bethes Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie, Bd. XVI, 2, S. 1511. Berlin, Springer, 1931. — [4] Eichler, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **154**, 59 (1930).

struktur verschiedener Organe ergaben (siehe darüber[5]). Als Vorarbeit zu diesem Vorhaben mußten die normale Ausscheidung einer Reihe von Mineralstoffen verfolgt und auch die Methoden für die Hauptuntersuchung festgelegt werden. Diese Vorsicht erwies sich als vorteilhaft, da sich bestimmte unumgängliche Forderungen für die Versuchsbedingungen ergaben, die nach den Erfahrungen beim Warmblüter durchaus nicht etwa selbstverständlich waren.

Methodik *.

Eine größere Anzahl von Fröschen wurde immer gemeinsam beobachtet, da infolge der Unmöglichkeit, den Urin oder den Inhalt der Kloake quantitativ zu erhalten, nur eine größere Zahl davor bewahren konnte, allzusehr dem Zufall zu verfallen. Auch trotzdem wird immer eine gewisse unvermeidbare Verzögerung zwischen dem tatsächlich ausgeschiedenen und dem zur Analyse kommenden Urin in Rechnung zu stellen sein. Wesentlich ist aber, daß uns nur mit allgemeinen Durchschnittszahlen für unsere Problemstellung gedient war. Es wurde also eine größere Zahl von Fröschen gewogen und in die üblichen großen Froschgläser gesetzt, nachdem sie vorher mit destilliertem Wasser kurz abgespült worden waren. Die Gläser enthielten kein Wasser, jedoch war durch angefeuchtetes Filterpapier eine feuchte Kammer hergestellt worden, deren Wirksamkeit am Wassergehalt von Einzelfröschen vorher kontrolliert worden war (siehe [5]). Nach abgemessenen Zeiten wurde durch Druck die Blase möglichst entleert, dann wurde die Haut flüchtig abgespritzt und die Tiere nach Abtropfen in ein neues trockenes Glas gesetzt, der Inhalt des bisherigen Glases analysiert.

Die Temperatur wurde durch ein Maximum-Minimum-Thermometer kontrolliert. Sie schwankte fast nur zwischen $19^1/_2$ und $20^1/_2{}^0$, nur selten und für kurze Zeit wurden Temperaturen von $18^1/_2$ und $21^1/_2{}^0$ erreicht.

In einem orientierenden Versuch mit 10 Fröschen erwies sich die Belichtung der Tiere von ganz besonderer Wichtigkeit. Deshalb wurden in dem Hauptversuch mit 60 Tieren Perioden eingeschaltet, in denen die Frösche im völligen Dunkel blieben (Periode A), mit einer Lampe von 75 Watt aus der Entfernung von 70cm angestrahlt wurden (Periode B), oder dem natürlichen Wechsel von Tag und Nacht überlassen wurden (Periode C). Die Entfernung von 70 cm genügte, um nicht etwa durch eine Temperaturerhöhung das Resultat unübersichtlich zu machen.

Das „Ausgeschiedene" war im allgemeinen klar mit gelegentlich bräunlichen Flocken, die aus dem Darm stammten. Diese wurden durch Filtration entfernt, jedoch blieb trotzdem noch manchmal nach der Einengung eine bräunliche Verfärbung übrig, die zur Veraschung des Harns zwang. Die Veraschung wurde jedesmal vorgenommen.

Als Veraschungsmethode bewährte sich das Verfahren von Rossenbeck [6] mit rauchender Salpetersäure im halboffenen System. Dieses Verfahren ist aber in unserer Analyse nur bei den Basen Na, K, Mg, Ca und eventuell noch Phosphat brauchbar. Zur Bestimmung der Halogene (Chlorid und später Jodid) war es notwendig, vorher einen aliquoten Teil abzuzweigen.

Die als Nitrate vorliegenden Basen wurden zuerst mit HCl abgeraucht, um die Chloride zu erhalten. Zuletzt wurde alles mit eingestellter Säure aufgenommen.

* Die Versuche wurden ausgeführt an männlichen Temporarien aus der Rheinniederung bei Kehl im Winter 1932/33.

[5] Eichler, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **198**, 442 (1941). — [6] Rossenbeck, H.: Biochem. Z. **221**, 375 (1930).

weil sich das besonders bei der Phosphatbestimmung als notwendig erwies. Über die mikroanalytischen Bestimmungsmethoden seien folgende Angaben niedergelegt:

Chlorid wurde nach Tschopp (folgend van Slyke) bestimmt. Nach Fällung mit Überschuß von $AgNO_3$ wurde mit n/100 KJ-Lösung zurücktitriert. Der Umschlag erfolgte beim Überschuß durch Zusatz von Nitrit [7, 1]) oder Jodat und Stärke durch die empfindliche Jodstärkereaktion. Zu beachten ist aber, daß dieser Umschlag nicht sofort erfolgt, sondern einen kleinen Überschuß von KJ verlangt, der als Leerwert abzuziehen ist. Er hängt ab von der Flüssigkeitsmenge.

Natrium wurde nach den Vorschriften von Mond und Netter [7] als Zink-Uranylkomplex durch Wägung bestimmt. Die stets ausgeführten Doppelbestimmungen unterschieden sich nur selten mehr als um 1 mg. Da meist 50—100 mg Fällung vorlagen, bedeutet das eine Differenz von $< 2\%$. Bei den höheren Zahlen der Versuche der folgenden Arbeit war sie bedeutend kleiner ($< 1\%$).

Kalium wurde als Cobaltnitritsalz gefällt und nach Tschopp mit Permanganat titriert. Die Angaben von Tschopp (betreffend Umrechnungsfaktor) können wir völlig bestätigen.

Calcium wurde als Oxalat bei p_H 6,0 gefällt und wie üblich mit Permanganat titriert. Nach Abzentrifugieren des Ca-Oxalats wurde die darüberstehende Flüssigkeit zur Bestimmung von Magnesium verwendet.

Magnesium. Die Bestimmung erfolgte nach Greenberg und Mackey [8, 9], d. h. die Fällung wird ausgeführt mit 8-Oxychinolin. Der Niederschlag wird mit Mikrofilter filtriert, gewaschen und in konzentrierter HCl gelöst. Zur Lösung erfolgt Zusatz von Bromid und eingestelltem Bromat, das elementares Brom freimacht, wodurch 8-Oxychinolin bromiert wird. Der Überschuß wird nach Zusatz von Jodid mit Thiosulfat zurücktitriert. Hinsberg und Lang [10] fanden das Verfahren unbefriedigend, solange die Mikrofiltration angewandt wurde. Hier kam es zu Verlusten. Wir haben selbst lange Zeit zur Einübung gebraucht und fanden erst bessere Werte, wenn das Bromid langsam tropfenweise zugesetzt wurde. Auf diese Weise gelingt es, das vorhandene Bromat fast völlig zur Bromierung zu bringen, während dazu bei sofortigem Zusatz ein größerer Überschuß notwendig ist. Dadurch wurden die zuerst unsicheren Analysen verbessert. Greenberg und Mitarbeiter [9] geben eine besondere Titrationsflasche an, um den Verlust von gasförmigem Br_2 zu verhindern. Aber ein Verlust von Brom würde den Fehler gerade nach der anderen Seite gegenüber Verlust bei der Filtration ausschlagen lassen, d. h. man würde größere Werte erhalten. Wir haben mit unserem langsameren Zusatz vielleicht dasselbe erreicht und erhielten bei Vorlage von 0,1—0,4 mg Mg in der Analyse Verluste von meist weniger als 2%. Aber insofern können wir Hinsberg und Lang [10] folgen, daß trotz aller Routine immer wieder einmal Analysen vorkamen, in denen Verluste von 10% auftraten. Wir rechnen mit 10—15% solcher Analysen. Da wir ausschließlich Doppelbestimmungen ausführten, wurde bei solchen Differenzen der größere Wert als Rechengrundlage gewählt.

Phosphat wurde kolorimetrisch nach den Vorschriften von Lohmann [11] mit Reduktion durch Eikonogen bestimmt.

Die Wiedergabe der Resultate der Analysen erfolgte ausschließlich in Milliäquivalent auf kg Körpergewicht. Dabei wurde das Äquivalent-

---

[7, 1] Christy, R. K., u. W. Robson: Biochem. J. (Brit.) **22**, 571 (1928). Nitrit bedarf bestimmter Acidität. — [7] Mond, R., u. Netter: Pflügers Arch. **230**, 42 (1932). — [8] Greenberg, D. M., u. M. A. Mackey: J. biol. Chem. (Am.) **96**, 419 (1932). — [9] Greenberg, D. M., C. Anderson u. E. V. Tufts: Ebenda **111**, 561 (1935). — [10] Hinsberg, K., u. K. Lang: Medizinische Chemie. Berlin und Wien 1938. — [11] Lohmann, K.: Biochem. Z. **194**, 306 (1928), nach der Methode von Subbarow u. Fiske: J. biol. Chem. (Am.) **66**, 375 (1925), s. auch [10].

gewicht der zweiwertigen Ionen Mg und Ca mit dem halben Atomgewicht, d. h. 12,16 (Mg) und 20 (Ca) angesetzt. Phosphat wurde mit 3 Valenzen gerechnet, d. h. also als Äquivalentgewicht 10;33. Gamble, Ross und Tisdall[2] rechneten mit 1,8 Valenzen unter der Annahme, daß Phosphat bei dem C_H des Organismus (p_H 7,4) nach Sörensen zum größten Teil als sekundäres Salz (mit 2 Valenzen) und nur wenig als primäres (mit 1 Valenz) vorliege. Diese Rechnungsart wurde für den gesamten Säure-Basenhaushalt schon von Heubner[3] beanstandet, weil bei Acidose die Knochensalze bewegt würden und hier gerade sei Phosphat mit allen 3 Valenzen besetzt. Die Berechnung muß in jeder Hinsicht unvollkommen sein, da auch in den Geweben und selbst im Blute Phosphat überwiegend in organischer Bindung vorkommt. Dabei ist aber die Acidität der einzelnen Valenzen durchaus fraglich. Neben stärkerer Säure, wie Phosphagen, gibt es auch schwächere. Die Wahl des Phosphats als dreiwertig ließ aber eine bequeme Beurteilung nach seiner Verbindung mit Ca zu. Bei Lösung von Knochensalzen muß Ca/P nach unserer Rechnung von dem Wert 1 sich sehr wenig unterscheiden, wie die Formeln $Ca_3(PO_4)_2$ mit genau 1 und das basische Apatit des Knochens (Klement) $3\,[Ca_3(PO_4)_2]\,Ca(OH)_2$ mit 1,1 zeigen.

Resultate.

Von der Gesamtheit unserer Analysen legen wir nur die Zahlen des einen Versuchs vor. Bei diesem Versuch wurden 60 Frösche mit zusammen 2213 g Gewicht beobachtet. Die Frösche waren 24 Stunden vorher aus dem Keller in das Laboratorium gebracht worden, wurden, bevor sie in die Versuchsgläser kamen, abgedrückt und abgespült, wie oben angegeben. Die Zeiten des Umsetzens in neue Gläser wechselten absichtlich. Der Versuch begann am 12. Dezember 1932, 11 Uhr vormittags und dauerte 223 Stunden mit 22 Abteilungen von 2—24 Stunden. Anfangs blieben die Frösche ausschließlich in einem dunklen Raum.

Wir geben die gesamten erhaltenen Werte statt auf einer Tabelle auf dem umstehenden Diagramm wieder. Es hat aus den ursprünglichen Zahlen nur eine Umrechnung nach der in einer Stunde ausgeschiedenen Menge in $^1/_{100}$ m äquiv. pro kg stattgefunden.

Ein Blick auf das Diagramm zeigt sofort die Ungleichmäßigkeit der Ausscheidung, indem in den kürzeren Perioden die Geschwindigkeit der Ausscheidung weit hervorsticht, während bei den Perioden von 24 Stunden die kleinsten Erhebungen zu sehen sind. Gerade in diesen Perioden ist aber die Farbe der gewonnenen Spülflüssigkeit am meisten durch die schon in dem vorigen Abschnitt erwähnten gelblichen Verfärbungen des Darminhalts verändert. Daher kann also ein Mehr oder Weniger nicht verursacht sein. Um den Verlauf von Stoffwechselveränderungen zu beobachten, wird man also möglichst gleichlange Perioden einführen müssen.

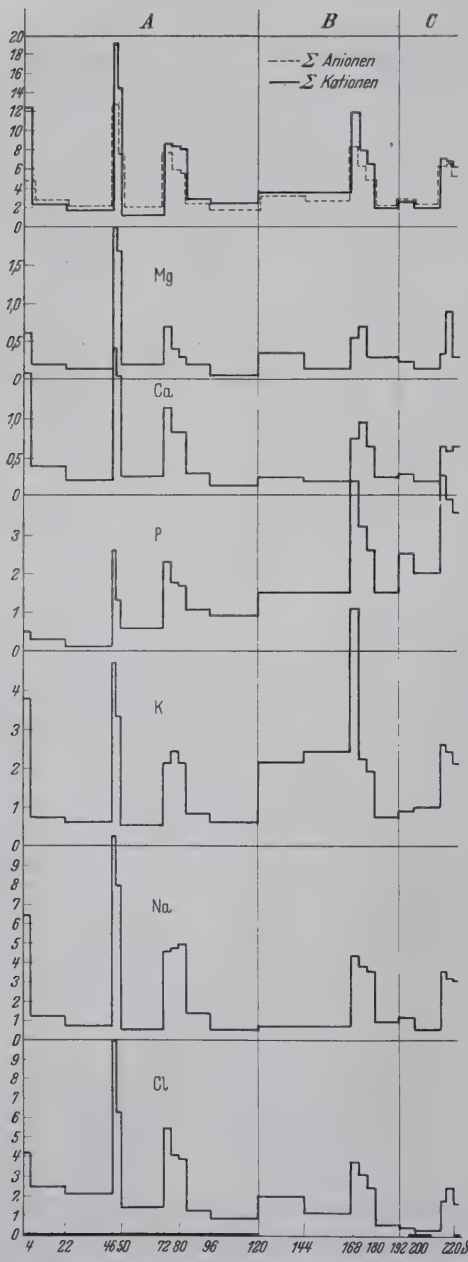


Abb. 1. Ausscheidung anorganischer Substanzen beim Frosch. Abszisse: Zeit in Stunden geteilt in 3 Hauptperioden. Periode A: Die Tiere sitzen im Dunkeln. Periode B: Sie werden dauernd beleuchtet. Periode C: Natürlicher Wechsel von Tag und Nacht. Die schwarzen Stäbe geben die Dunkelzeiten an. Ordinate: Ausscheidung in $^1/_{100}$ m äquiv./kg Tier pro Stunde.

Wenn wir jetzt unter Einschluß dieser Abweichungen den Gesamtverlauf bis zum Schluß des Versuches bei den einzelnen Ionen ins Auge fassen, wird man bei Ca, Mg, Na und auch der Summe der sauren und alkalischen Äquivalente keine prinzipielle Veränderung sehen können. Insbesondere ist auch nicht am Anfang des Versuches — wie man erwarten könnte — eine verstärkte Ausscheidung wegen der anfangs vielleicht in großer Menge zur Verfügung stehenden Reserven sichtbar. Solche anfänglichen Vermehrungen wären durchaus möglich. Abweichungen finden sich in den Quotienten (s. u.).

Wenn wir die Versuchszeiten besichtigen, in denen eine Reihe kleiner Perioden auf eine längere Zeit, z. B. von 24 Stunden folgt, dann sehen wir, daß die erste Periode die größten Zahlen ergibt, und stufenweise gehen die Werte anschließend zurück. Dieser fast regelmäßig vorkommende Verlauf ermöglicht verschiedene Auslegungen. Die erste erscheint vielleicht am plausibelsten und bezieht sich auf die rein mechanische Trennung des Ausgeschiedenen von den Fröschen, über die wir schon anläßlich der Me-

thodik sprachen. Wenn ein bestimmter Prozentsatz des Ausgeschiedenen z. B. in der Kloake des Frosches bleibt und in die nächste kleine Periode übernommen wird, dann muß es rein rechnerisch zu einem großen Anstieg der Stundendurchschnittswerte kommen, und zwar um so mehr, je kürzer diese Perioden sind. Eine zweite Auslegung wird darin bestehen, daß die für die Ausscheidung notwendigen Vorgänge im Stoffwechsel während der vorhergehenden 24 Stunden längere Zeit haben und erst mit Verzögerung zur Ausscheidung von Mineralien führen. Dergleichen ist bekannt, bei den Mineralien z. B. die verzögerte Phosphatausscheidung nach stark erschöpfender Arbeit. Die zuerst erwähnte Auslegung ist allein nicht imstande, die verschiedenen Abwandlungen der Resultate auch bei Berücksichtigung der Quotienten zu erklären. Über sie wird noch zu sprechen sein. Schon beim Calcium sehen wir, wie die Spitzen bei kurzen Perioden im Verlauf des Versuches allmählich kleiner werden, während die Ausscheidung sich in den längeren Zwischenperioden auf etwa gleichem Niveau hält. Wenn wir jetzt zu Chlorid übergehen, sehen wir allmählich einen systematischen Rückgang der Ausscheidung sowohl der langen als auch kurzen Perioden. Wir könnten in diesem Verhalten das Zeichen für einen Rückgang der Cl-Räume, d. h. der extracellulären Räume sehen. Da diese beim Frosch zum großen Teil aus dem Lymphraum bestehen, wird eine Abnahme der Lymphe in Frage kommen. Nach Gamble, Ross und Tisdall[2] wird ein Rückgang der extracellulären Räume immer verbunden sein mit einem Verbrauch von Glykogenreserven. Beides wäre also vereinbar. Daß dieser Schluß bei Berücksichtigung der quantitativen Verhältnisse nicht ausreicht, werden wir später sehen.

Bisher haben wir es unterlassen, den Verlauf der Diagramme von K und P zu verfolgen, da diese Substanzen sich völlig anders verhalten. Hier zeigt sich die Wirkung der Belichtung auf die Ausscheidungsvorgänge. Wir müssen jetzt in dem Gesamtversuch die drei großen Perioden beachten. Während der ersten Periode A von 120 Stunden — an der Abszisse des Diagramms ist ein schwarzer Stab angebracht — saßen die Frösche im Dunkeln. Während der dann beginnenden zweiten Periode B wurden sie mit einer Lampe — wie unter Methodik berichtet — angestrahlt. Von der 192. Stunde blieben sie im Laboratorium natürlichem Wechsel von dunkel und hell überlassen (C). Die Dunkelperioden sind durch schwarze Stäbe markiert. Bemerkenswert sind die Veränderungen bei K beim Übergang ins Helle. Vorher war keine Änderung der Werte zu beobachten, vielleicht eher eine Tendenz zur Abnahme in den kurzen Perioden. Diese Abnahme war in einem hier nicht publizierten Versuch sehr deutlich, und zwar auch bei den langen Perioden. Kalium verhielt sich in der Abnahme ähnlich Chlorid. Mit der 120. Stunde beginnt eine beträchtlich vermehrte Ausscheidung. Diese Ausscheidungsvermehrung ist ein Zeichen der größeren Erregung der Tiere. Vollmer[12] fand dasselbe bei Ratten

[12] Vollmer, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194**, 551 (1940).

nach Gabe von Coffein. Obwohl bei uns der Reiz durch das Licht aber bis zur 192. Stunde andauert, klingt der Erfolg in Hinsicht auf die Ausscheidung von K schon früher ab, d. h. der Reiz erschöpft sich, und trotz der Zeitabschnitte im Dunkeln bei Übergang zu der dritten Hauptperiode wird der alte Effekt nach der 200. Stunde nicht wieder hergestellt.

Wenn wir jetzt die Phosphatausscheidung betrachten, sehen wir auch hier einen Einschnitt nach Beginn der Belichtung, aber die Mehrausscheidung dauert noch weit über diesen Reiz hinaus an. Nur nebenbei wollen wir bemerken, daß ein Ansatz zu vermehrter Ausscheidung schon vorher gegeben ist. Im Zusammenhang mit dem Verhalten von Chlorid wird erreicht, daß die gesamten Anionen (d. h. [Cl] + [P]) etwa gleichbleiben.

Dieses besondere Verhalten gerade von K und P weist auf die Muskulatur als Quelle ihrer Herkunft hin. Wir wissen aus älteren Versuchen von Embden, daß der gereizte Muskel Phosphat abgibt, und die ausführlichen Untersuchungen von Fenn[13] zeigen dasselbe für Kalium. Hier sehen wir, daß aber K' nicht nur von der Muskulatur abgegeben und von der Leber aufgenommen wird, sondern daß auch eine regelrechte Ausscheidung erfolgt, wenn wir als Ursache dieser Änderungen die durch die Belichtung und den sensorischen Reiz gegebene vermehrte Beweglichkeit sehen *. Ob eine Tonussteigerung der Muskulatur auch mitspielt, ist nicht zu sagen[16]. Wenn man die Frösche beobachtete, zeigte sich nur in den ersten Minuten nach Einschalten der Lampe eine deutlich erhöhte Beweglichkeit. Aber solch subjektiver Aspekt will ja nicht viel bedeuten.

Werden jetzt die Kurven der anderen Ionen gerade an der Schwelle der 120. Stunde nochmals unter Berücksichtigung von Einzelheiten ins Auge gefaßt, dann sehen wir, daß auch bei Mg'' und Cl' eine vermehrte Ausscheidung erfolgt ist. Da Mg nach Fenn[13] ähnlich Kalium während der Tätigkeit der Muskulatur abgegeben wird, ist dieser Befund wenigstens qualitativ zu erwarten, ebenso wie die fehlende Steigerung der Ca-Ausscheidung. Eher ist die vermehrte Abgabe von Cl' bemerkenswert, zumal die Muskulatur nach Reiz Cl' aufnimmt. Hier besteht erstens die Möglichkeit, daß durch das Hautsekret größere Mengen abgegeben werden. Solche Abgaben von Anionen während Erregung wurden nachgewiesen[17]. Aber ebenso kann es sich um eine Regulation der Acidität handeln. Wir wissen (Fenn[13]), daß bei Reizung des Muskels Na, teilweise im Austausch gegen K,

* Es ist für die Aufbewahrung der Frösche im Winter wichtig, daß man sie im Dunkeln und möglichst ungestört läßt. Wir hatten im Düsseldorfer Institut einen hellen Keller. Dort hielten sich die Frösche selten bis Ende März, während im dunklen Keller in Gießen Winterfrösche noch bis in den nächsten August leben blieben. Hier haben wir eine der Ursachen in dem durch die Belichtung gegebenen vermehrten Stoffverbrauch. Der Gewichtsverlust war auch schon stärker in der kurzen Hellperiode als in der dunklen (s. u.).

[13] Fenn, W. O.: Physiol. Rev. (Am.) **16**, 450 (1936) und zahlreiche Arbeiten in Amer. J. Physiol. 1936—1939.

in den Muskel — oder nach Mond und Netter[14,15] — in die Oberfläche der Fasern eindringt. Tatsächlich wird Na nicht mit Cl′ vermehrt ausgeschieden, also eingespart. Die Ausscheidung von Anionen und Kationen ist etwa äquilibriert. Ähnlich werden beim Warmblüter K und PO_4 zugleich nur bei Säuerung ausgeschieden[16].

Diese qualitativen, sofort sichtbaren Hinweise müssen jetzt noch erweitert werden durch bestimmte quantitative Betrachtungen, die sich einfach aus der Zusammensetzung des Muskels, des Skelets, des ganzen Frosches und schließlich aus dem Gewichtsverlust unserer Versuchsfrösche ergeben. Unsere 2213 g Frösche verloren nämlich in der ersten Periode von 120 Stunden 49 g, d. h. 22,1 g/kg, während der Zeit bis zum Abschluß des Versuches — also bis zur 223. Stunde — 55 g Gewicht, d. h. 24,9 g/kg. Diese Gewichtsverluste sind auch ein Zeichen, wie die Belichtung den Verbrauch von Körpersubstanz vermehrt.

Versuch einer quantitativen Auswertung.

Die von uns hier gemessene Ausscheidung gibt natürlich nur die Summe der Vorgänge im Organismus, ähnlich wie der respiratorische Quotient beim Gasstoffwechsel. Aber durch Messungen, die aus der Literatur vorliegen, sind doch gewisse Schlüsse möglich. Ein Beispiel dieser Art geben uns die Versuche von Gamble, Ross und Tisdall[2] am Menschen, ohne daß uns die Möglichkeit einer so großen Vielseitigkeit — schon wegen der kleinen Versuchstiere, abgesehen von sonstigen Schwierigkeiten — gegeben war, die bei diesen Autoren eine Aufrechnung fast im Sinne der doppelten Buchführung ermöglichte.

Ein ähnliches Vorgehen konnte auch in Hinsicht auf die anschließende pharmakologische Beeinflussung durch Gaben von NaCl oder NaJ und ihre Auswertung wichtig werden. Vielleicht erhielten wir auch bestimmte Anhaltspunkte über die Ursachen dieser merkwürdigen Änderung der Ausscheidung während langer Perioden gegenüber den kurzen, wenn man die Ausscheidung pro Zeiteinheit zur Grundlage oder Beobachtung macht wie auf Abb. 1. Diese Änderung, die absolut konstant war, jedesmal zu beobachten, gleichgültig ob die Tiere im Dunkeln oder Hellen saßen, betraf schließlich mehr oder weniger alle untersuchten Substanzen. Zu ihrer Interpretation gab es aber zwei sofort in die Augen springende Erklärungen.

Erstens konnte durch den Zwang, zum Abpressen den Frosch in die Hand zu nehmen, eine Erregung bei dem Tiere zu vermehrter Tätigkeit und Stoffwechsel führen. Die in dieser Zeit der Erregung ausgeschiedenen Mineralien mußten sich bei den langen Intervallen auf viele, bei den kurzen

[14] Mond, R., u. H. Netter: Pflügers Arch. **230**, 42 (1932). — [15] Hudoffsky, B., G. Malorny u. H. Netter: Pflügers Arch. **243**, 388 (1940). — [16] Klinke: Mineralstoffwechsel. Leipzig und Wien 1931, S. 140 ff.

aber nur auf wenige Stunden verteilen, und so ergäben sich Effekte, wie sie in unseren Analysen in Erscheinung traten. Eine zweite Möglichkeit ergäbe sich dadurch, daß von dem sezernierten Urin ein Teil während des Aufenthaltes in der Blase, vor allem aber in dem zum Darm gehörigen Teil der Kloake, bevorzugt die anorganischen Substanzen, einer Rückresorption unterliegt. Diese Rückresorption ist nicht so unwahrscheinlich, wurde doch in früheren Versuchen (Eichler[17]) bei der Ausscheidung von Jodid in der Flüssigkeit aus der Kloake ein vielfach niederer Gehalt an Jodid beobachtet als in der echten Blase. Es könnte sich hierbei um eine Sekretion von jodidarmer Flüssigkeit durch die Darmwand handeln, aber da die Frösche eher sich im Zustand des Flüssigkeitsmangels befinden, wäre solcher Luxusverbrauch doch höchst merkwürdig. Jedenfalls kommt eine Rückresorption hier wohl in Frage und würde dabei die Beobachtungen auch erklären können.

Eine besondere Ausnahme macht hierbei das Cl′. Nach den Berichten der Literatur ist der Urin des Frosches frei von Cl′, der Frosch vermag nach Krogh sogar aus ganz kleinen Cl′-Konzentrationen — z. B. des Leitungswassers — Cl′ elektiv für seinen Stoffwechselbedarf zu gewinnen.

Wie verhalten sich nun die von uns gemessenen Cl′-Mengen zu den Urinmengen, die in der Literatur niedergelegt sind? Jeder Frosch soll pro Tag 0.28 g Harn vom spez. Gewicht 1.0009—1.0018 absondern[18]; bei unseren 60 Tieren käme man insgesamt auf 16,8 ccm. In diesen 16,8 ccm würden sich dann — wir nehmen als Beispiel die Ausscheidung in der XI. Periode im mittleren Betrage — 16,2 mg Cl′ befinden, also eine Konzentration von rund 0.1 % Cl! Dieser Wert wäre viel zu hoch und könnte vielleicht auf eine Ausscheidung durch die Sekrete der Haut hindeuten, so daß also die Haut als Organ auch für die Ausscheidung in Frage käme, wie es beim Jodid schon nachgewiesen wurde[17]. Man wird die Haut — ebenso wie den Darm — als Ort der Resorption in Frage ziehen müssen. Da die Frösche zu mehreren im Glase beieinandersitzen, ist die Möglichkeit hier gegeben. Jedoch möchten wir diese Möglichkeit sofort ausschalten, da sie vielleicht für Cl und Na, nicht aber für schwerpermeierende Ionen, wie Ca, Mg und PO_4 in Frage kommt, wofür im Darm die Vorbedingungen viel besser gegeben sind. Dementsprechend ist darauf hinzuweisen, daß alle hier analysierten Ionen in gleicher Weise in den kurzen Perioden vermehrt zur Ausscheidung kommen.

Von den ventilierten Möglichkeiten ist vor allem die erste zu untersuchen und einer Prüfung auch zugänglich. Diese Untersuchung führt uns wiederum zu der Frage der Erregung und gibt uns den Ansatzpunkt der Analyse. Zuerst wird man fragen, ob die Ionen in demselben Verhältnis ausgeschieden wurden, wie sie im Muskel vorhanden sind. Das

[17] Eichler, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **175**, 67 (1934). — [18] Winterstein: Handbuch der vergleichenden Physiologie, Bd. 11, 2, S. 801.

Verhältnis der Ionen zum Kalium (als das Leition für die Abnahme von Plasma der Muskelzellen) diente zur Orientierung. Uns standen Stickstoffanalysen wie Gamble und Mitarbeitern[2] nicht zur Verfügung. Wir geben auf unserer Tabelle 1 die Vergleichszahlen nach Fenn[13] wieder in m äquiv./kg Frischgewicht (nach unserer Äquivalentrechnung).

Tabelle 1.

	Muskel	$\frac{\text{Ion}}{83{,}0}$	Blutplasma	Na/Cl
K	83,0	—	2,5	
Na	25,4		103,8	1,397
Mg	16,6	0,2	6,0	
Ca	5,0	0,060	4,0	
Cl	10,6		74,3	

Der Vergleich geschah nur bei den typischen Muskelionen Ca und Mg. Cl und Na sind dagegen nach den Werten im Blutplasma zu vergleichen, für Phosphat im Muskel haben wir zwei Vergleichsmöglichkeiten. Fenn gibt als Summe der Phosphorsäureester, des Phosphokreatinin, Adenosintriphosphat und o-Phosphat 33,2 mMol an, nach unserer Rechnung also 99,6 m äquiv. P/K ist hier 1,2; Ca/P = 0,052. Außerdem gibt es noch Angaben in der Tabulae biologicae[19] für Gesamtphosphat mit dem Wert 180,2 mMol mit P/K 2,29 und Ca/P 0,022. Die erste Zahlenangabe von Fenn betrifft vorwiegend diejenigen Bestandteile, von denen wir genau wissen, daß sie an der Muskelkontraktion aktiv Anteil haben, mit ihnen haben wir meist den Vergleich gezogen.

Bevor wir den Muskel in Rechnung stellen, wollen wir drei Quotienten der Ionen in ihrem Verlauf auf Abb. 2 zur Darstellung bringen. Diese Quotienten besitzen zur Muskulatur nur sehr lockere Beziehungen. Bei dem Verhältnis Na/K und Cl/K sind vor allen Dingen leichtpermeierende Ionen in Beziehung gebracht worden. Bei $\frac{\text{Na} + \text{K}}{\text{Mg} + \text{Ca}}$ stehen oben leicht-, unten schwerresorbierbare Ionen. Es handelt sich um den bekannten Loebschen Quotienten der Tetanie, der auch bei der Vergiftung mit den Anionen der Hofmeisterschen Reihe von Bedeutung sein kann.

Am leichtesten auszulegen ist die Kurve mit dem Quotienten Na K. Wenn Muskeltätigkeit bzw. vorhergehende Erregung wirksam sind, werden wir Veränderungen erwarten dürfen wie nach der 120. Stunde, als die Frösche in das helle Licht gesetzt wurden. Durch die Erregung wird $K^{\cdot}$ frei und nach Fenn $Na^{\cdot}$ teilweise im Austausch in die Muskelfaser aufgenommen. Der Quotient muß sinken, wie der Vergleich mit den gleich langen Zeitabschnitten sofort deutlich macht. Würde Erregung in den kurzen Abschnitten die Ursache der vermehrten Ausscheidung sein, dann

[19] Tabulae biologicae, Bd. III, S. 447 (1926).

müßten die Veränderungen in gleicher Richtung liegen. Tatsächlich sind sie entgegengesetzt. Wir werden also eine Rückresorption in der Kloake annehmen müssen? Diese einfache Vorstellung reicht noch nicht völlig aus zur Erklärung des gegensätzlichen Verhältnisses wegen der gleich guten Resorbierbarkeit von $Na^{\cdot}$ und $K^{\cdot}$ durch Schleimhäute. Aber dieses Dilemma ist nur scheinbar. Denn in unserer früheren Überschlagsrechnung sahen wir, daß $Na^{\cdot}$ teilweise durch die Haut verlorengehen muß, so daß es der Rückresorption entgeht. Daher müssen wir uns jetzt von dem Verhalten von Cl' überzeugen, das in dieser Hinsicht ein ähnliches Schicksal

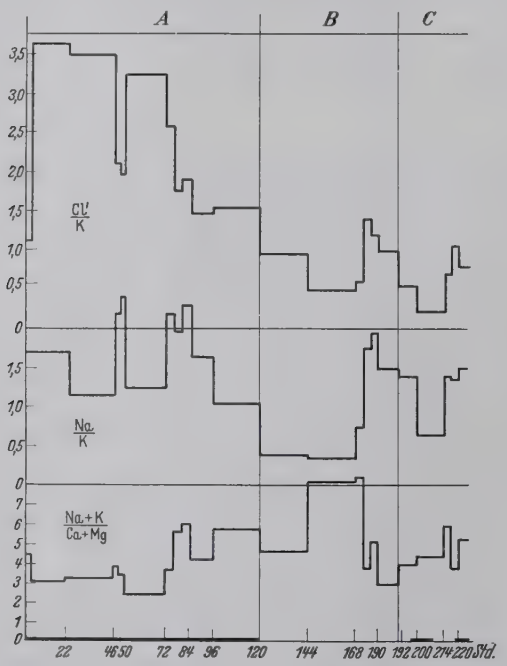


Abb. 2. Abszisse: wie in Abb. 1; Ordinate: Quotienten der ausgeschiedenen Menge.

hat. Hier liegen die Verhältnisse aber nicht eindeutig wegen der Tendenz des Organismus, zunehmend gerade Chlorid (mehr als Na) einzusparen, wie es auch Gamble, Ross und Tisdall[2] fanden. Aber sobald die ersten Tage mit ausgefallenen Werten vorüber sind, finden wir auf der Kurve die Ähnlichkeit mit der Kurve Na/K. Am Anfang gibt es die zwei Perioden von je 2 Stunden, deren Verhalten vorher und nachher dem entsprechen würde, was wir nach Erregung erwarten müßten.

Die letzte der drei Kurven $\frac{Na + K}{Ca + Mg}$ müßte bei Rückresorption — im Zähler die leicht-, im Nenner die schwerresorbierbaren Ionen — gerade bei den kurzen Zeiten sinken, oder bei langen Intervallen steigen, da dann

die langsame Rückresorption besonders in Erscheinung treten müßte. Wir sehen häufig dahingehende Ausschläge, durchaus nicht immer; aber wenn sie anders verlaufen, sind sie im Betrage besonders klein. Die Phase der Erregung zeigt sich hier nicht eindeutig und schwer zu interpretieren, weil zwei Tendenzen gegeneinanderstehen.

Abb. 3 soll uns einige Beziehungen zu den Bestandteilen im Muskel vor Augen führen. Deshalb ist der Quotient Ca/K entsprechend Tabelle 1 durch 0,060, Mg/K durch 0,2 dividiert worden. Bei P/K haben wir nur die Division durch 1,2 (also entsprechend den leichtbeweglichen PO_4-Verbindungen) zur Darstellung gebracht. Soll der gesamte P des Muskels zur Grundlage dienen, dann würden sich die Werte auf nicht ganz die Hälfte verringern. Wenn die ausgeschiedenen Mineralien aus der Muskulatur stammen würden, dann müßte der Quotient den Wert 1 annehmen. Wir sehen sofort, daß $Ca^{\cdot}$ weit im Überschuß abgegeben wird. Das entspricht den Befunden von Gamble und Mitarbeitern[2], die daraus den Schluß zogen, daß das Skelet die Ursache dieser Ca-Mengen sein müsse und diese bevorzugt zur Neutralisation von Säure dienen. Tatsächlich sind auch die von uns erfaßten basischen Äquivalente immer größer als die Säuren, so daß das Defizit durch organische Säure gedeckt werden wird. In einem Gegensatz dazu würde die Zeit der Erregung stehen, wenn nicht $K^{\cdot}$ (statt $Ca^{\cdot}$) hier als Base einträte. Die Mobilisierung von $Ca^{\cdot\cdot}$ scheint nicht in Einklang mit der von Phosphat zu stehen. Das Verhältnis Ca/P müßte 1 überschreiten, beträgt aber, wie der oberste Linienzug zeigt — mit einer ziemlichen Konstanz verlaufend — weniger als die Hälfte, in den hauptsächlichsten Zeiten zwischen 0,1 und 0,3. Gamble und Mitarbeiter[2] fanden in den fünf Hungerperioden ihrer Versuchsperson A. G. folgende Werte: 0,051, 0,139, 0,183, 0,127, 0,144, also Ca/P in der gleichen Größenordnung. Auf diesem Linienzug ist auch zu beachten, daß die kurzen Perioden eine Tendenz zur Erhöhung von Ca/P zeigen. Wenn Erregung die Ursache der höheren Ausscheidung wäre, müßte — da Ca im Muskel nicht freigemacht wird, wohl aber P, wie schon der zweite Linienzug zeigt —

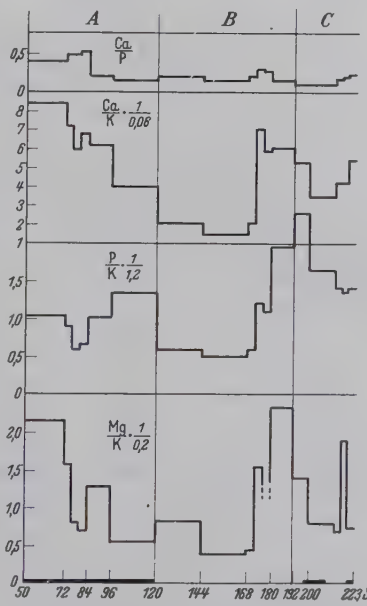


Abb. 3. Abszisse: wie in Abb. 1; Ordinate: Konzentrationsquotienten mit K, angeglichen den Quotienten in der Muskulatur, entsprechend den Werten der Tabelle 1.

der Quotient sinken. Allerdings bleibt er etwa konstant während der Periode der Erregung, steigt aber während der kurzen Perioden.

Der Verlauf der Kurve Ca/K ist abnehmend, wobei der Zeitpunkt der beginnenden Erregung gar nicht als Abschnitt ins Auge fällt. Vielleicht ist aber von Interesse, daß während der — trotz weiterdauernder Belichtung abklingenden Erregung der Quotient steigt. Wahrscheinlich handelt es sich um eine Regulation. Eine Vermutung dieser Art hat uns übrigens zu dieser ganzen Untersuchung geführt, worüber in den nächsten Arbeiten zu sprechen sein wird.

Die Kurve P/K verläuft teilweise sehr nahe an 1, also in Übereinstimmung mit der Herkunft des P aus dem Muskel bei Reduktion des Plasmas. Hier verläuft die Kurve in den drei kurzen Perioden nach der 72. Stunde in derselben Richtung wie nach der 120. Stunde, also als Andeutung, daß eine Erregung dieser kurzen Perioden maßgeblich sein könnte, aber in derselben Periode ist dafür bei Mg/K gerade das Gegenteil zu sehen und ebenso später. Der in der letzten Periode erfolgende Anstieg des P ist, trotzdem der Quotient den Wert 1 beträchtlich überschreitet, nicht auf Mobilisierung aus dem Skelet zu beziehen. Dazu fehlt der Anstieg der Quotienten Ca/P, eher handelt es sich um eine verzögerte Ausscheidung nach der vorherigen Einsparung.

Fenn (l. c.) fand beim gereizten Muskel, daß einem Verlust von 1,63 m äquiv. K^{+} ein Verlust von 0,23 m äquiv. Mg gleichkam. Werden diese Zahlen als Grundlage für das Verhältnis Mg/K gewählt, dann nähern sich auch während der Erregung die Verhältnisse dem Wert 1. Ähnlich wie bei Ca^{++} steigt der Quotient mit Aufhören des Reizerfolges des Lichtes. Auch dieser Effekt wäre als Ursache in Betracht zu ziehen. Es ist solche Mobilisierung von Mg^{++} und Ca^{++} — wovon auch auf Abb. 2 der Linienzug $\frac{Na + K}{Mg + Ca}$ einen Eindruck vermittelt — in den Konzentrationen des Plasmas kaum wahrnehmbar, zeigt sich aber im Urin gewissermaßen wie im Zeitintegral.

Als Fazit unserer Analyse werden wir entnehmen, daß die Rückresorption in der Kloake bei den in den kurzen Perioden erhöhten Stundenwerten am wahrscheinlichsten ist und bei weitem am besten geeignet ist, die Erscheinungen zu erklären.

Summierung der Werte.

Uns bleibt jetzt noch die Frage, inwieweit die ausgeschiedenen Mengen sich aus den verschiedenen Geweben des Organismus erklären lassen. Da aus der Literatur Gesamtanalysen des Frosches nicht zur Verfügung stehen, haben wir, um wenigstens einen Anhalt zu haben, zwei Tiere analysiert.

Die Tiere wurden in CO_2-Äther gefroren nach Shakell [20] getrocknet. In diesem Zustand können sie leicht zu einem homogenen Pulver zerrieben werden. Von diesem Pulver wurden bestimmte Teile entnommen, nach Rossenbeck verascht und analysiert. Von jedem Frosch wurden zwei Proben getrennt verarbeitet und je zwei Analysen gemacht, so daß von jedem Werte vier Analysen mit guter Übereinstimmung erhalten wurden. Die Resultate gibt Tabelle 2, bezogen auf 1 kg Froschgewicht (November 1932):

Tabelle 2.

	Gramm		mäquiv.		Durchschnitt
K	1,996	2,125	51,05	54,3	52,68
Ca	9,643	10,380	482,2	519,0	500,0
Mg	0,296	0,283	24,3	23,2	23,75
Na	1,130	1,090	49,2	47,0	48,1
P	5,290	5,650	512,0	547,0	530,0
H_2O	783	788			

Zur Auswertung trennen wir die gesamte Beobachtungszeit in die lange Dunkelperiode A von 120 Stunden Dauer und in die zusammengefaßten Perioden B und C, in denen die Erregung durch Belichtung stattgefunden hat. Die Trennung in diese Zeitabschnitte ist dadurch gegeben, daß wir nach beiden die Frösche gewogen haben und so die Möglichkeit hatten, das verlorene Körpergewicht mit den verlorenen Mineralien in Beziehung zu setzen. Die Werte und Umrechnungen geben wir auf Tabelle 3.

Tabelle 3.

	Periode	Cl	Na	K	Ca	P	Mg
I. Direkt bestimmte Werte in mMol/kg Frosch	A	2,721	2,008	1,193	0,503	0,882	0,328
	B + C	1,482	1,489	1,992	0,352	2,152	0,318
II. Berechnet auf Stunden mMol · 10^2	A	2,27	1,67	0,99	0,42	0,74	0,27
	B + C	1,44	1,45	1,93	0,34	2,09	0,31
III. Konzentration im verlorenen Gewicht	A	123,1	90,9	54,0	22,8	39,9	14,8
	B + C	59,5	59,8	80,0	14,1	86,4	12,8
IV. Division durch die Zahlen der Tabelle 2	A	—	1,89	1,03	0,046	0,075	0,62
	B + C	—	1,24	1,52	0,028	0,16	0,54
V. Dividiert durch Konzentration im Muskel (der Tabelle 1)	A	11,6	3,58	0,65	4,55	0,40	0,89
	B + C	5,49	2,35	0,96	2,83	1,00	0,77

Die Summenzahlen ergeben nochmals in den absoluten, direkt bestimmten Werten I den stärkeren Verlust von Cl^- und in geringerem Ausmaß von Na^+, während bei K^+ und P die Wirkung der Erregung deutlich wird. Das tritt noch stärker hervor, wenn man unter II. die Stundendurchschnitte nimmt, wo jetzt auch eine erhöhte Ausscheidung von Mg^{++} deutlich wird.

[20] Shakell: Amer. J. Physiol. **24**, 325 (1909).

Unter III. wurde die Umrechnung nach dem Gewichtsverlust vorgenommen, der in der Periode A 22,1, in B + C 24,9 g/kg Frosch betrug. Diese Zahlen wurden jetzt verglichen zuerst in IV. mit dem Gehalt des Gesamtorganismus an diesen Substanzen (entsprechend unserer Analyse von Tabelle 2). Die Ausscheidung von $Na^{\cdot}$ ist stärker als der Durchschnittskonzentration entspricht, allerdings in der zweiten Periode mehr der Einheit angenähert. Wichtig ist das Verhalten von $K^{\cdot}$, das während der Ruheperiode A völlig entsprechend dem Gesamtgehalt zur Ausscheidung gelangt, bei B + C aber verstärkt. Unter V. wurde der Vergleich in ähnlicher Weise mit den Analysen des Muskels nach Fenns Zahlen der Tabelle 1 vorgenommen. Hier ist nun sowohl beim $K^{\cdot}$ als auch P die Abgabe entsprechend dem Muskelgehalt, es wurde allerdings der leichtbewegliche P in Rechnung gestellt, dessen Umsatz bei der Muskelkontraktion bekannt ist. Beim Mg ist die Abgabe nicht viel schwächer. Aber in jedem Falle kamen $Na^{\cdot}$ und Cl' in großem Überschuß zur Ausscheidung.

Wichtig ist das Verhalten des $Ca^{\cdot\cdot}$. Dieses wird zwar nach dem Gehalt des Organismus in viel geringerer Menge abgegeben, nach dem Gehalt des Muskels aber vermehrt, wie wir es schon früher gefunden haben. Diese Abgabe erfolgte aber nicht so, daß aus dem Knochen entsprechende Mengen Phosphat mobilisiert worden wären, auch nicht in der Periode B + C verstärkt mit der Erregung und dem vielleicht größeren Bedarf zur Neutralisation. Dieses Verhalten ist bemerkenswert und hebt die Art des Gewichtsverlustes von der in den üblichen Froschbassins mit Durchströmung von Leitungswasser heraus. Denn bei Knochenwägungen, die wir von Januar bis März ausführten, ergab sich nicht ein größerer Gewichtsanteil der Knochen am Gesamtgewicht, sondern er blieb innerhalb der Fehlergrenze gleich. Das würde bedeuten, daß das Skelet und die anderen Teile des Organismus etwa parallelgehend abgebaut werden. Das ist hier offenbar nicht der Fall. Es müßte zum mindesten spätere Perioden verstärkten Knochenabbaus geben.

Auch das Verhalten des Chlorids bedarf noch der Erwähnung. Man kann eine Rechnung nach folgendem Gesichtspunkt vornehmen:

Da Chlorid extracellulär gelagert ist und wir nach Fenn (Tabelle 2) den Gehalt des Plasmas und damit die extracelluläre Flüssigkeit kennen, können wir aus den absoluten Mengen abgegebenen Chlorids die Menge der extracellulären Flüssigkeit ausrechnen, die verlorengegangen sein muß. Wenn wir diese Rechnung ausführen, dann kommen wir in der Periode A auf einen Verlust von 36,6 g, in der Periode B + C von 20,0 g dieser Flüssigkeit. Diese Werte sind größer als dem Körpergewichtsverlust entspricht oder decken ihn völlig. Das ist aber unvereinbar mit den Analysen und der vereinfachten Annahme, die uns zu den übersichtlichen Resultaten der Tabelle 3 führte. Cl' muß durch die Spülung mit Aqua. dest. in der ersten Periode besonders aus der Haut verlorengegangen sein. Diese These geht

über eine bloße Annahme hinaus. Aber dann müßte Chlorid — wenn wir den Gedanken konsequent verfolgen — ohne entsprechenden Wasserverlust abgegeben worden sein, d. h. also, es müßten in der Haut „trockene" Depots vorhanden gewesen sein. Es besteht natürlich die Möglichkeit, daß der Frosch die extracelluläre Phase vermindert hat unter Verschiebung der Flüssigkeit in die Zelle, ähnlich wie es von uns[5] dargestellt wurde, aber für diese Menge sind die möglichen Ausschläge zu klein und in der Periode der Erregung nimmt z. B. in der Muskulatur der Gehalt an Cl (und Na) mit dem Verlust von $K^{\cdot}$ zu. Ohne Erregung nehmen aber die Zellen nicht Wasser auf und dann würde auch der größte Cl'-Verlust nicht am Anfang während der Ruheperiode A stattfinden. Es bestände schließlich noch die Möglichkeit, daß der Frosch am Ende der Periode mehr Wasser im Organismus enthält als vorher, daß also der gemessene Gewichtsverlust zu klein ausfiele. Dann hätten die Analysen von $K^{\cdot}$ und P und ihre Abschätzung auf Tabelle 3 nur zufällig zu den erwarteten Resultaten geführt. Da die Frösche trocken saßen und beim Umsetzen in trockene Gläser kamen, scheint uns ein Wassergewinn sehr zweifelhaft *. Dieser Widerspruch läßt sich vielleicht so beseitigen, daß der Frosch die „trockene" Retention von Cl' nicht nur in der Haut, sondern auch im gesamten Organismus vorgenommen hatte, in anderen Worten, daß das osmotische Niveau überall gesunken ist. Nicht leicht zu vereinbaren ist nach dieser Vorstellung das Verhältnis des $Na^{\cdot}$, das viel stärker ausgeschieden werden müßte. Wir müßten bei einem allgemeinen Rückgang des osmotischen Druckes außerhalb der Zelle nach vorübergehender Wasserverschiebung in die Zelle einen Verlust von osmotisch aktiver Substanz aus den Zellen nach außen haben. Ist das Verhalten des Phosphats ein Symptom dafür? Diese an sich interessanten Probleme, die wiederum von Regulationen handeln, führen ohne weitere Versuche zu keiner neuen Erkenntnis.

Zusammenfassung.

Der Mineralstoffwechsel (Na, Cl, P, Mg, Ca, K) von Fröschen wird über 223 Stunden in größeren und kleineren, insgesamt 22 Zeitabschnitten verfolgt. In drei großen Perioden sitzen die Tiere entweder im Dunkeln (A), in dauerndem Licht (B) oder dem natürlichen Wechsel unterworfen (C). Die Periode B wirkt wie ein Reiz, führt zu stark vermehrter Ausscheidung von $K^{\cdot}$ und P, kaum von Mg. Der Reiz wird aber nach einiger Zeit unwirksam, zugleich zeigt sich Mobilisierung von $Ca^{\cdot\cdot}$ und weniger von Mg.

* Deshalb haben wir auch diese Möglichkeit zur Erklärung der stärkeren Ausscheidung während kurzer Perioden gar nicht in Betracht gezogen, abgesehen davon, daß andere Gründe dagegen sprechen. Nur wenn durch eine besonders starke Diurese ein früheres Abspritzen aus der Blase erfolgt, könnte ein Effekt in derselben Richtung erzielt werden.

besonders im Vergleich. Das $Ca^{\cdot\cdot}$ stammt meist nicht aus der Muskulatur, für P vermag sie dagegen die Bilanz zu decken. Beim Vergleich der Analysen mit dem Verlust an Körpergewicht zeigen sich bei Periode B+C (Erregung) Verluste von K und P (weniger von Mg) in demselben Verhältnis, wie sie in der Muskulatur vorkommen, in Phase A (Ruhe) K entsprechend dem Gehalt im Organismus.

Chlorid (etwas auch Na) wird in einer Menge ausgeschieden, die mit dem Gewichtsverlust nicht in Einklang zu bringen ist. Die Annahme einer „trockenen" Speicherung in der Haut (und anderen Organen?) ist mit den Resultaten noch am besten vereinbar.

Während kurzer Perioden wird pro Stunde mehr ausgeschieden als in längeren Perioden. Diese Beobachtung läßt sich am besten auf eine teilweise Rückresorption in der Kloake zurückführen.

Einige Analysen über die mineralische Zusammensetzung des Frosches werden mitgeteilt.

Aus dem Institut für Pharmakologie und exper. Therapie der Universität Breslau.
(Direktor: Prof. Dr. Eichler.)

Wirkung von Kochsalz in verschiedenen Konzentrationen auf die Ausscheidung anorganischer Substanzen beim Frosch*.

Von

Oskar Eichler und **Lore Eichler.**

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 25. November 1941.)

Untersuchungen wie die vorgelegte sind gelegentlich beim Warmblüter ausgeführt worden, ohne daß allerdings die Vielfalt von Mineralien Berücksichtigung fand. Uns interessierte dieses Problem anfangs nur, um gewissermaßen eine Basis für andere Salze der Hofmeisterschen Reihe zu erhalten, die alle eine ähnliche Wirkung aufweisen, fortschreitend nach ihren lyotropen Eigenschaften [1]. Diese Wirkung erstreckt sich vor allem auf den Muskel, dessen Stoffwechsel genauer als der anderer Organe untersucht wurde und bei dem auch schon der Mineralstoffwechsel während der Erregung gerade in den letzten Jahren durch Fenn [2] zur Beobachtung kam. Die Bedeutung des Muskels in der Entwicklung der NaCl-Vergiftungssymptome zeigte eine kürzliche Publikation von Hudoffsky, Malorny und Netter [3]. Durch die Untersuchung des Mineralstoffwechsels war die Möglichkeit gegeben, über längere Zeit hin und im Verbande des Organismus zu beobachten.

Schließlich führte uns ein gelegentlich erhobener Befund zu diesem Thema. Bei Toxikationsbestimmungen mit verschieden konzentrierten Lösungen von Jodid [1] fand sich, daß die Herzen der toten Frösche nach Gabe von 2 molarer und 1 molarer Lösung in Diastole stehengeblieben waren. Diese Reaktion war absolut zu erwarten nach den Befunden am isolierten Herzen [4]. Wenn wir aber zu halbmolarer Lösung übergingen, fand sich plötzlich fast ausschließlich ein Herzstillstand in Systole. Dieser Befund schien auf eine Beeinflussung des Ca-Stoffwechsels hinzudeuten, der gerade bei Wegfall der osmotischen Wirkungen in Erscheinung treten konnte und als ein Faktum der Gegenregulation von Bedeutung sein könnte, da Tonusanstieg einer Beeinflussung durch Calcium unterliegt.

* Die Versuche wurden im Winter 1932/33 ausgeführt und durch eine Beihilfe der damaligen Notgemeinschaft der deutschen Wissenschaft ermöglicht.

[1] Eichler, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **154**, 59 (1930). — [2] Fenn, W. O.: Physiol. Rev. (Am.) **16**, 450 (1936). — [3] Hudoffsky, B., G. Malorny u. H. Netter: Pflügers Arch. **243**, 388 (1940). — [4] Eichler, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **144**, 251 (1929).

Er kann nämlich durch höhere Gaben von $Ca^{\cdot\cdot}$ verhindert werden. Auch beim Froschherzen hatte sich ein Antagonismus zwischen Anion (wie ClO_4', aber auch SCN') und $Ca^{\cdot\cdot}$ ergeben, und dieser Antagonismus läßt sich, ebenso wie der Synergismus der stark lyotrop wirkenden Anionen zu Kalium, in weitem Bereich der Giftwirkung auch am Warmblüter nachweisen [5]. Um diesen Verhältnissen nachzugehen, wurden die Versuche unternommen, und daher erklärt sich auch die gewählte Dosis von NaCl.

Methodik.

Die Bedingungen ergeben sich aus den Resultaten der vorhergehenden Arbeit [6]. Es wurde dort dargestellt, daß bei Beobachtung des Mineralstoffwechsels des Frosches eine erhöhte Ausscheidung erfolgt (berechnet auf Ausscheidung·kg pro Stunde), wenn die Tiere in kurzen Perioden, etwa von 2—4 Stunden, abgedrückt werden, gegenüber den langen von 24 Stunden. Ebenso fand sich eine tiefgreifende Vermehrung der Ausscheidungen, wenn die Frösche im Hellen saßen. Gleichgültig, auf welchem Wege diese Beobachtungen sich erklären lassen (Erregung, Rückresorption in der Kloake, Abspülung und damit Wasserzufuhr), ergab sich durch unsere Beobachtungen für uns die Möglichkeit, diese Fehler zu vermeiden. Deshalb wurden die Tiere — abgesehen von der Zeit des Abdrückens — im Dunkeln in ihren feuchten Kammern, deren Boden aber trocken war, unter Temperaturkontrolle gelassen. Dann wurden in den entscheidenden Zeiten die Perioden etwa gleich lang gewählt. Nach der ganzen Versuchsanlage betrugen die Perioden:

Periodennummer . .	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV	Summe
Dauer in Stunden	4	4	4	4	4	4	5	5	5	9	4	5	5	10	5	77

Die Frösche * wurden 2 Tage vor dem Versuch in das Laboratorium gebracht und einige Male mit Aqua dest. abgespült, um die Periode des anfänglichen Cl'-Verlustes zu überbrücken. Dann erhielten sie die gleiche Dosis von 10 mMol/kg NaCl in den Bauchlymphsack. Diese Menge entsprach der in früheren Versuchen [7] verwendeten Joddosis, die wiederum die Hälfte der mittleren tödlichen Dosis [1] betrug. Diese Salzmenge wurde in m/2-, m/1- und 2 m-Lösung verabfolgt. Zu jedem der drei Versuche wurden 60 Frösche benötigt. Diese Menge ergab sich nicht nur, um Durchschnitte, sondern auch um ausreichendes Material für die Analyse zu erhalten. Da der erste Verlauf der Vergiftung besonders sorgfältig beobachtet werden sollte, wurden die Perioden von 4 Stunden gewählt. Längere Perioden wurden anfangs ganz vermieden, später aber mußten sie wegen notwendigen Schlafes zugelassen werden.

Die Analysen betrafen Cl', PO_4, $Na^{\cdot}$, $K^{\cdot}$, $Mg^{\cdot\cdot}$ und $Ca^{\cdot\cdot}$. Nur Doppelbestimmungen wurden ausgeführt, so daß hier die Resultate von 450 Analysen mitgeteilt werden. Die Methode und Berechnungsweise wurde schon in der vorhergehenden Arbeit [6] besprochen.

Die Ausscheidung von Na und Cl.

Statt auf unübersichtlichen Tabellen wollen wir unsere Analysenwerte auf einzelnen Diagrammen niederlegen. Auf Abb. 1 wird die Ausscheidung

[5] Eichler, O.: Anorganische Anionen in Heffter-Heubners Handbuch (1942). — [6] Eichler, O. u. L.: Naunyn-Schmiedebergs Arch., vorhergehende Arbeit. — [7] Eichler, O.: Ebenda **175**, 67 (1934).

* Versuche im Januar 1933. Männliche Temporarien aus der Rheinniederung bei Kehl.

von $Na^{\cdot}$ und Cl' bei den verschieden konzentrierten Lösungen gesondert dargestellt. Es findet sich in jeder Abteilung (a, b, c) ein Kurvenpaar, das die Werte nach Stundendurchschnitten in den einzelnen Perioden wiedergibt (in $^1/_{100}$ mMol pro kg pro Std.) und ein anderes die Summenkurven, d. h. die bis zu dem betreffenden Periodenschluß insgesamt durch Analyse als ausgeschieden ermittelte Menge (in mMol/kg).

Am Ende des Versuchs, d. h. nach 77 Stunden, ist in allen Versuchen mehr Cl' ausgeschieden als $Na^{\cdot}$, wenn auch der Unterschied bei der 1 molaren Lösung (b) sehr gering ist. Die absolute Menge ist am größten bei der halbmolaren Lösung mit 92% beim Na und 95% beim Cl', da pro kg immer 10 mMol verabfolgt wurden. Diese Werte werden als verhältnismäßig hoch betrachtet werden müssen, wenn man berücksichtigt, in welch extremem Maße die Froschniere Kochsalz rückzuresorbieren vermag. Jedoch sind hier noch bestimmte Mengen normaler Ausscheidung abzurechnen, wie sie in den ersten Versuchen [6] gefunden wurden. Legt man die Durchschnittswerte der letzten Periode zugrunde (Tabelle 3 der Arbeit [6]), dann würde eine Menge von 1,1 mMol, d. h. hier 11% abgezogen werden müssen. Bei den höheren Konzentrationen war die Ausscheidung auch ohne diese Rechnung geringer.

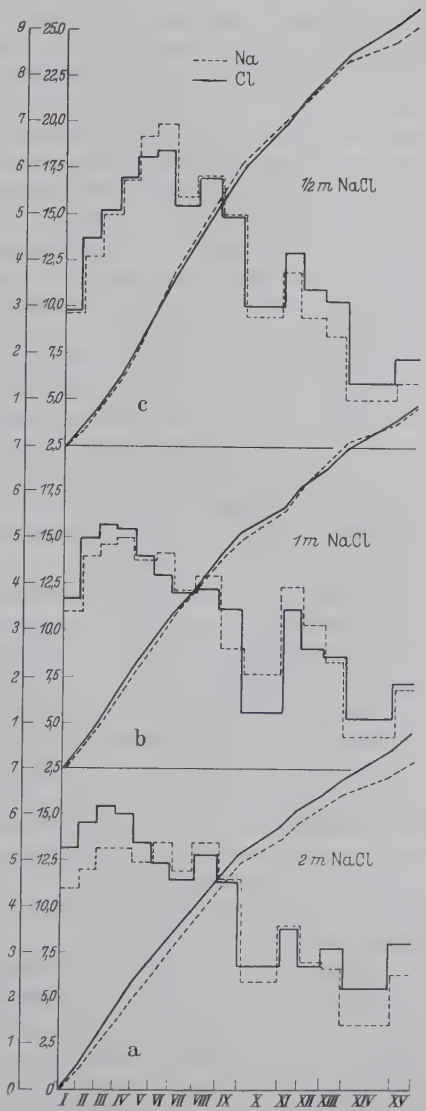


Abb. 1.

Ausscheidung von Na (- - - - -) und Cl (———). Abszisse: Zeit, die Bezeichnung in Perioden. Ordinate: Die äußere linke Zahlenreihe gilt für die Summenkurven und bedeutet mMol/kg. Die rechte Zahlenreihe gilt für die Ausscheidung, gerechnet pro kg und Stunde in 10^{-2} mMol. Verabfolgt wurden auf Kurve a) 2 m NaCl, b) 1 m NaCl, c) m/2 NaCl.

Vergleicht man den gesamten Verlauf der Summenkurven untereinander, dann findet man für Cl′ bei allen drei Konzentrationen bis zur Periode V einen fast identischen Verlauf, und erst von diesem Zeitpunkt an schneidet die Ausscheidungskurve der m/2 NaCl, die bis dahin am meisten nach unten lag, die anderen und übertrifft sie, während diese weiterhin kaum einen Unterschied aufweisen *. Beim Na′ teilen sich die Kurven schon deutlich von der vierten Periode ab und es findet sich eine um so größere Ausscheidung, je geringer konzentriert die Lösung ist, wenn auch die beiden stärkeren Lösungen eng beieinanderliegen. Diese Art des Verlaufs würde man nach unseren früheren Versuchen[4] mit Na-Jodid erwarten müssen. Es wurde damals in erster Annäherung darauf zurückgeführt, daß die Niere zur Ausscheidung auch Wasser bedarf. Wenn im Bestand des Organismus die Wasserreserven größer sind, wird die Ausscheidung besser erfolgen. Diese Auffassung spielt hier auch eine Rolle, wenn sich natürlich auch die Zeit für diesen Effekt sehr lange hinzieht. Wir haben nicht die Möglichkeit gehabt, die Menge des gebildeten Urins zu messen, jedoch versuchten wir wenigstens eine grobe Abschätzung dadurch zu erlangen, daß wir die Zahl der Frösche beachteten, die beim Abdrücken sichtbar die Blase entleerten. Dabei ergab sich folgendes Bild:

Bei der 2 m-Lösung fand sich in der ersten Periode eine geringfügige Urinsekretion, die sich leicht daraus erklären läßt, daß durch die Hypertonie eine Hydrämie erzeugt wird. Dieser Effekt, der nur während der ersten Periode anhielt, führte auch zu einer NaCl-Ausscheidung, die größer war als bei den anderen Konzentrationen. Nur in dieser Periode lag die 2 molare Lösung bezüglich Ausscheidung und Diurese an der Spitze, dann hörte letztere auf, um erst später angedeutet einzusetzen. Bei der molaren Lösung beginnt die Diurese erst bei der IV. Periode, ohne je sehr große Werte zu erreichen. Bei der halbmolaren Lösung wächst sie in der II. zur III. Periode, ist in der VI. Periode stark, erreicht in der VIII. und IX. Periode das Maximum, um dann allmählich abzunehmen. Wenn man diese rein klinischen Notizen mit der Ausscheidungskurve vergleicht, dann findet sich ein ausreichender Parallelismus. Dieser ist um so erstaunlicher, als wir den Eintritt der Diurese dermaßen verzögert finden.

Daß von der halbmolaren Lösung zu den beiden anderen ein so großer Unterschied besteht, ist leicht verständlich. Es wurden pro kg Frosch von der 2 molaren 5 ccm, von der 1 molaren 10 ccm, von der halbmolaren aber 20 ccm verabfolgt. Da es sich hier bei der Froschniere um absolute Mengen, nicht aber um relative handelt, könnte die Anlage des Versuchs nach der üblichen geometrischen Progression für diese Frage nicht optimal sein, sie war uns aber aufgezwungen durch die Vorarbeit in früheren Ver-

* Diese Kurven wurden hier nicht gezeichnet, sondern sind nur aus dem Vergleich von Abb. 1 zu entnehmen.

suchen [1]. Wenn man diese Vorbedingung ins Auge faßt, werden wir sogar den größeren Abstand der m/2-Lösung von den beiden anderen erwarten müssen.

Wir haben uns noch mit einer Überlegung auseinanderzusetzen. Durch das Abspülen der Frösche ergibt sich die Möglichkeit, daß Wasser zur Resorption gelangt und so für die Ausscheidung des NaCl das Lösungsmittel von außen zur Verfügung gestellt wird. Diese Möglichkeit ist ohne weiteres zu bejahen, und zwar weil die Tiere am Ende des Versuchs nur einen sehr geringfügigen oder fast gar keinen Gewichtsverlust aufweisen. Wenn trotzdem die halbmolare Lösung so viel besser zur Ausscheidung kommt, wird man diesem Faktor eine geringe Wirksamkeit zubilligen können.

Wir müssen jetzt noch die Frage des Maximums der Ausscheidung berücksichtigen. Bei den konzentrierteren Lösungen liegt dieses in der dritten und vierten Periode, bei der halbmolaren erst in der sechsten. Ist dieser Unterschied durch die Geschwindigkeit der Resorption bedingt? Nach unseren früheren Untersuchungen [7] wird man das nicht annehmen können, ebensowenig wie nach den Messungen von Isayama [8], nach denen das gesamte Blutserum in jeder halben Stunde einmal in den Lymphstrom kommt. Trotzdem wird man vielleicht infolge der größeren Flüssigkeitsmenge bei der dünnen Lösung eine gewisse Trägheit annehmen dürfen, wenn auch nicht in diesem Ausmaße. Eine Schädigung der Lymphherzen ist außer Betracht zu lassen, da diese Schädigung eher bei den höheren Konzentrationen und noch viel mehr bei den Jodidversuchen [7] hätte deutlich werden müssen. Trotzdem war damals schon spätestens nach 4—6 Stunden die Resorption abgeschlossen.

Außerdem spielen aber Faktoren des Gewebes eine Rolle, und zwar erstens eine lokale. Durch die Hypertonie wird die anliegende Bauchmuskulatur geschädigt und die Fasern müssen für NaCl durchgängig werden. Auch mit Jodid [7] fand sich hier eine vorübergehende übermäßige Konzentrationssteigerung. Diese Einwirkung wirkt sich aber am stärksten bei den hohen Konzentrationen aus. Es wird bei diesen also ein stärkeres Zurückhalten der Lösung ermöglicht und das Maximum verschoben werden können, nicht aber gerade bei der schwächsten. Daß $Na^{\cdot}$ gerade am Anfang zurückbleibt, wie auf der Summenkurve, entspräche der Erwartung.

Wichtiger sind die allgemeinen Gewebsfaktoren. Diese sind nun in zwei Richtungen zu suchen. Nach Gamble, Ross und Tisdall [9] erfolgt bei Hungern (des Menschen) und der daraus folgenden Acidose ein Übertritt von Cl' in die Erythrocyten und das Bindegewebe. Dadurch wird die Ausscheidung vermindert und es erfolgt Einsparung. In unseren früheren Versuchen [6] wurde beim Frosch ein analoger Vorgang beobachtet, ohne daß die Acidose nachgewiesen wurde.

---

[8] Isayama, S. (bei Brücke): Z. Biol. **82**, 91 (1924). — [9] Gamble, L. J., G. S. Ross u. F. F. Tisdall: J. biol. Chem. (Am.) **57**, 633 (1923).

Der zweite und für unsere Belange wichtigere Vorgang ist der Befund von Netter und Mitarbeitern [3], nach dem Na˙ in die Muskulatur oder ihre Membranzone eintritt und Cl′ zurückläßt. Jetzt erfolgt auch eine Acidose, wie sie von Behrens [10] nachgewiesen wurde, aber anders als beim Hungern, die durch Acetonkörper veranlaßt wird. Dieser Verlauf muß umgekehrt die Ausscheidung von Na˙ verhindern. Bei Zufuhr von NaCl muß also im Urin eine überschießende Ausscheidung von Cl′ erfolgen. Das ist auch der auf allen Abteilungen der Abb. 1 zu beobachtende Effekt, wie er im Stundenmittel besonders deutlich wird. Bei allen drei Konzentrationen sieht man zuerst eine Phase, in der die gepunktete Na-Kurve unterhalb der durchgezogenen Cl′-Kurve verläuft. Diese Phase wird wohl nach dem Netterschen Prinzip zwanglos ihre Erklärung finden. Sie dauert bei 2 molarer Lösung bis zur VI., bei der 1 molaren bis zur V., bei der m/2 bis zur IV. Periode. Anschließend erfolgt dann anscheinend der regulative Ausgleich von der Na-Ausscheidung, d. h. die Na-Kurve läuft jetzt bei allen drei Konzentrationen oberhalb der von Cl′. Dieser Vorgang ist groß genug, um auf der Abteilung c die Summenkurve des Na sogar vorübergehend die des Cl′ übersteigen zu lassen. Das gelingt auf b nur wenig und spät, auf a, also bei der stärksten Konzentration, aber nie. Diese Vorgänge sind systematisch und finden sich in derselben Reihenfolge, also ein periodischer Vorgang, wie ihn auch Vollmer [11] bei dem Mineralstoffwechsel nach Coffein feststellen konnte. Wir werden hier die zweite Phase der überschießenden Na-Ausscheidung auf eine Acidose auf der Basis organischer Säuren zurückführen können. In den kurzdauernden Versuchen von Netter und Mitarbeitern [3] ließ sich keine Bildung organischer Säure (Milchsäure) bei NaCl-Vergiftung aufzeigen, aber wir selbst konnten früher [1] gerade im weiteren Verlauf, d. h. nach etwa 14—16 Stunden, den Beginn einer Milchsäurebildung nachweisen. Diese Phase ist auch die Phase des Erkrankungsbeginns, die bei NaCl nicht anders verläuft als bei Jodid und Rhodanid [1, 12]. Wir werden also nach Netter [3] die erste Phase der Ausscheidung als regulativ mit dem Zweck der Erniedrigung des osmotischen Druckes auffassen. Die zweite Phase wird eher ein Symptom der Erkrankung sein und die letzte vielleicht ein Symptom der Heilung. Wir erwähnen nur die Frage, warum gerade bei der stärksten Lösung die zweite Phase der Erkrankung nicht das vorher eingesparte Na zur Ausscheidung bringen kann, wo doch die Erkrankung bei den stärksten Konzentrationen am stärksten verläuft. Hierfür gibt es verschiedene Argumente, die wir nicht diskutieren wollen, nur wollen wir hinweisen auf die lokale Schädigung der Bauchmuskeln, die zur Na-Retention führen muß.

Schon aus diesen Zahlen ergibt sich, daß der gesamte Prozeß der Vergiftung nach 77 Stunden nicht abgeschlossen ist.

[10] Behrens, B.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **128**, 104 (1928). — [11] Vollmer, H.: Ebenda **194**, 551 (1940). — [12] Eichler, O.: Ebenda **198**, 442 (1941).

Gesamtausscheidung der Basen und Säuren.

Wenn in dem vorhergehenden Kapitel sich zu bestimmten Zeiten ein Unterschied in der Ausscheidung von basischen und sauren Äquivalenten ergeben hat, ist natürlich die Frage berechtigt, ob durch Ausscheidung anderer Substanzen das Prinzip der Neutralität etwa erfüllt, die Bilanz ausgeglichen wird.

Wir legen die Resultate in Abb. 2 und Tabelle 1 nieder.

In Tabelle 1 sind die Summenkurven ausgerechnet, d. h. die Menge Substanz in mMol, die bis zum Ende der betreffenden Perioden ausgeschieden wurde. Ersichtlich werden immer weniger Anionen ausgeschieden als Kationen, selbst wenn wir P ausschließlich als anorganisches Phosphat und bei diesem alle drei Äquivalente in Rechnung stellen. In den absoluten Werten zeigt sich die Überlegenheit der m/2-Lösung. Der Überschuß ist nicht allein durch die vermehrte Ausscheidung von

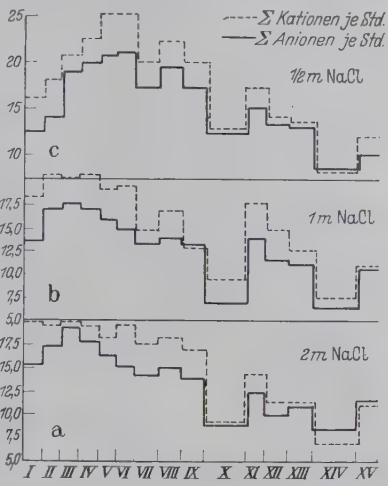


Abb. 2.
Ausscheidung von Kationen (- - - -) und Anionen (———) pro kg und Stunde.
Abszisse: Zeit in Periodennummern.
Ordinate: $^1/_{100}$ mÄquivalente.

Tabelle 1.

Perioden	2 molar NaCl			1 molar NaCl			m/2 NaCl		
	Anionen	Kationen	Kat.-An.	Anionen	Kationen	Kat.-An.	Anionen	Kationen	Kat.-An.
I	0,61	0,79	0,18	0,54	0,73	0,19	0,50	0,65	0,15
II	1,30	1,57	0,27	1,23	1,57	0,34	1,20	1,37	0,17
III	2,07	2,36	0,29	1,93	2,37	0,44	1,96	2,21	0,25
IV	2,78	3,14	0,36	2,61	3,21	0,60	2,76	3,11	0,35
V	3,42	3,87	0,45	3,25	3,97	0,72	3,59	4,13	0,54
VI	4,02	4,65	0,63	3,84	4,76	0,92	4,44	5,13	0,69
VII	4,72	5,52	0,80	4,51	5,54	1,03	5,30	6,14	0,84
VIII	5,47	6,44	0,97	5,22	6,38	1,16	6,28	7,25	0,97
IX	6,16	7,29	1,13	5,87	7,03	1,16	7,15	8,26	1,11
X	6,94	8,10	1,16	6,50	7,90	1,40	8,25	9,41	1,16
XI	7,43	8,67	1,24	7,05	8,60	1,55	8,90	10,09	1,19
XII	7,92	9,24	1,32	7,62	9,33	1,71	9,57	10,82	1,25
XIII	8,45	9,79	1,34	8,18	9,97	1,79	10,23	11,50	1,27
XIV	9,27	10,47	1,20	8,91	10,73	1,82	11,08	12,33	1,25
XV	9,84	11,02	1,18	9,44	11,34	1,90	11,59	12,92	1,33

$Na^{\cdot}$ und Cl' erklärbar, sondern geht darüber beträchtlich hinaus. Bei den Kationen folgen dann die Versuche abnehmend mit der zunehmenden Konzentration der injizierten Lösung. Das gilt aber nicht für die Anionen, deren Verhalten durch die Ausscheidung von Phosphat modifiziert wird. Die Differenz der Anionen und Kationen zeigt daher eine Überlegenheit der molaren Lösung, während sie bei der 2 molaren sogar am kleinsten ist. Diese Differenz ist hier dazu bei der Ausscheidung von NaCl vorgegeben. Nimmt man an, daß die Differenz durch die Ausscheidung organischer Säuren bedingt ist, dann würde sich daraus der Schluß auf die schwächste Säurebildung bei der konzentriertesten Lösung ergeben, eine Konsequenz, die unerwartet ist nach unseren allgemeinen Vorstellungen.

Die Verteilung der Überschüsse auf den gesamten Verlauf des Versuches ist auf der Abb. 2 zu ersehen. Die Form der Kurven wird wesentlich bedingt durch die Ausscheidung von $Na^{\cdot}$ und Cl', wie ein kurzer Vergleich mit Abb. 1 zeigt. Die Differenz entwickelt sich größtenteils in den ersten Stunden und es zeigt sich nur auf Abb. 2a der schwache Versuch zum Ausgleich. Außerdem sind auch von Interesse die ersten drei Perioden, deren Verlauf sich durch die Darstellung der Einzelionen (Abb. 3) zwanglos erklären läßt.

Ausscheidung der Einzelionen.

Die Resultate gibt Abb. 3 wieder. In der linken Abteilung dieses Bildes wurde die Ausscheidung von $^1/_{100}$ mMol/kg/Std., in der rechten die bis zur betreffenden Periode ausgeschiedenen Mengen in mMol dargestellt (Summenkurve).

Zuerst richten wir — im Anschluß an die in dem vorletzten Kapitel auf Abb. 1 aufgezeigte Differenz der $Na^{\cdot}$- und Cl'-Ausscheidung mit Überwiegen des Cl' — unser Augenmerk darauf, ob vielleicht ein teilweiser Austausch von $Na^{\cdot}$ gegen $K^{\cdot}$ im Muskel, wie ihn Fenn[13] bei der Erregung des Muskels gesehen hat, dafür verantwortlich gemacht werden kann. Im Gegensatz zu Fenn fanden Hudoffsky, Malorny und Netter[3] bei NaCl-Vergiftung des Kaninchens keinen derartigen Austausch, wie sie durch Analyse des Muskels erhärteten. Unsere Resultate sind mit beiden Befunden vereinbar und ergänzen sich gegenseitig.

Nach Abb. 3b kommt $K^{\cdot}$ in der I. Periode um so mehr zur Ausscheidung, je konzentrierter die Lösung ist. In der II. Periode ist bei m/2 NaCl keine vermehrte Abgabe zu sehen, während bei 2 m NaCl dieser Vorgang noch bis in die nächste Zeit andauert. Dieser primäre Effekt ist bedingt durch die lokale Wirkung an den Bauchmuskeln, die sich auch durch Milchsäureabgabe zeigte[1]. Daneben ist noch eine größere allgemeine Reiz- und Erregungswirkung sichtbar und als Ursache einzusetzen, entsprechend den Befunden von Fenn. Das Fehlen einer stärkeren Aus-

[13] Fenn, W. O.: Physiol. Rev. (Am.) **16**, 450 (1936).

scheidung von $K^{\cdot}$ bei m/2 NaCl zeigt aber, daß ein Ersatz durch $Na^{\cdot}$ oder äquivalenter Austausch, wie Hudoffsky, Malorny und Netter[3] es auch fanden, nicht in Frage kommt. Wenn man auf Abb. 1 die Differenz

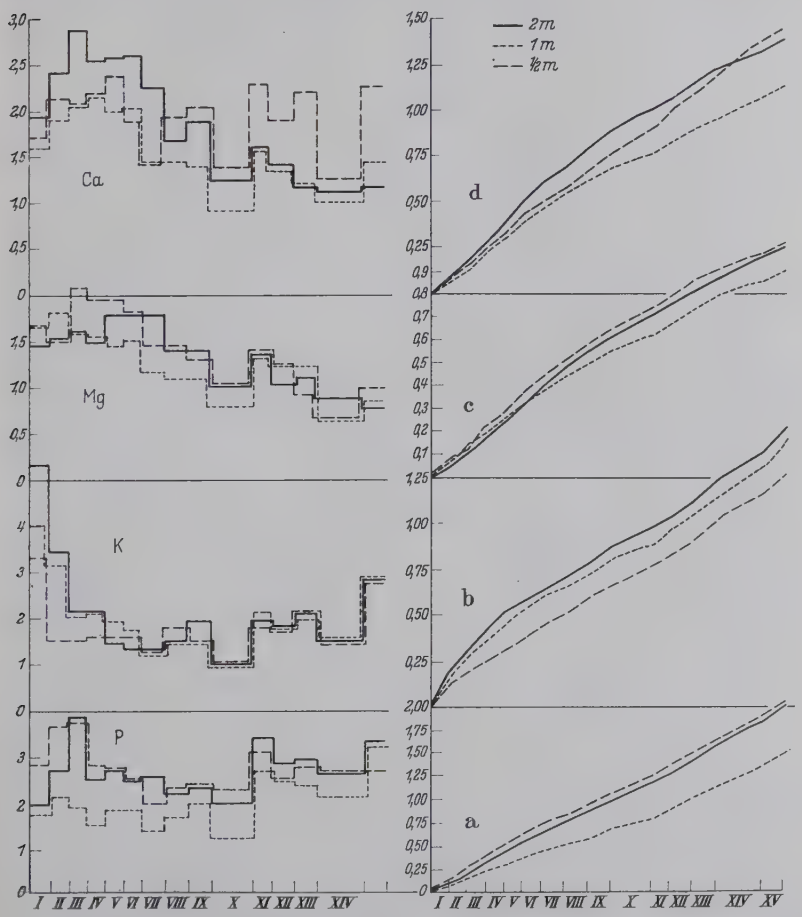


Abb. 3.
Ordinate: Ausscheidung von $Ca^{\cdot\cdot}$, $Mg^{\cdot\cdot}$, $K^{\cdot}$ und P in $^1/_{100}$ mÄquiv./kg/Std. auf den 4 linken Kurven. Bei den Summenkurven rechts bedeutet die Ordinate mMol/kg.
Abszisse: beiderseits, Zeit in Perioden.
——— 2 molare
------ 1 molare
— — — $^1/_2$ molare
} Lösung.

zwischen $Na^{\cdot}$ und Cl' berücksichtigt, dann ist sie um so größer, je konzentrierter die Lösung ist, aber es findet sich keine zeitliche Kongruenz, also

auch eine Bestätigung der Befunde obiger Autoren [3]. Wenn ein Austausch in Frage käme, müßte er sich bei der Art unserer Versuchsanordnung zeigen, die jeden Effekt in sich summierender Form zur Geltung bringt.

Im weiteren Verlauf des Versuches zeigt sich nach Durchgang durch ein Minimum die Tendenz zum Anstieg der Ausscheidung. In der Summenkurve rechts zeigt sich im gesamten eine $K^{\cdot}$-Ausscheidung, steigend mit der Konzentration der injizierten Lösung. Die Größe der Differenzen ist praktisch schon durch den Verlauf in den ersten sechs Perioden, also 24 Stunden des Versuchs gegeben, ohne daß sich in der folgenden Zeit die geringste Tendenz zum Ausgleich zeigte. Die Diurese verläuft nicht in irgendeinem Zusammenhang mit der $K^{\cdot}$-Ausscheidung.

Bei der Phosphatausscheidung (Abb. 3, Kurve a) sieht man bei der konzentrierten Lösung die Ausscheidung von $K^{\cdot}$ begleiten, und zwar auch mit derselben Verzögerung, wie sie sich nach Erregung in der vorhergehenden Arbeit [6] ergab. Dieser anscheinend leicht zu deutende Effekt fehlt aber bei der molaren Lösung, oder ist nur angedeutet, dafür ist er aber bei m/2 NaCl deutlich und tritt sogar rascher auf als bei 2 molar NaCl. Es zeigen sich also noch andere Faktoren als die lokale Wirkung des osmotischen Druckes. Man wird die Veränderung des kolloidosmotischen Druckes bei plötzlicher Überschwemmung mit Aqua. dest. als Ursache in Frage stellen oder im Sinne unserer früheren Befunde, die durch die abundante Diurese bedingte Hemmung der Rückresorption. Im zweiten Teil des Versuches sieht man bei allen drei Konzentrationen die Tendenz zu ansteigender Ausscheidung, dem Anblick nach konformgehend mit der Kaliumausscheidung. Dieser Anstieg nach der X. Periode fällt besonders ins Auge bei der molaren Lösung, deren Ausscheidung anfangs wenig von den früher gefundenen Normalwerten abwich.

Die Entscheidung, ob eine vermehrte Ausscheidung gegenüber früher vorliegt, ist nicht leicht zu fällen. Bei Berücksichtigung der Durchschnittszahlen (Tabelle 3 der Arbeit [6]) würde man auf die Zahl $0{,}74 \cdot 10^{-2}$ mMol pro kg/Std. kommen. Wenn man aber die Bedingungen der Periodenlänge von 4—5 Stunden stellt (Abb. 1 der Arbeit [6]), kommt man auf fast $1{,}5—2{,}0 \cdot 10^{-2}$ mMol/kg/Std.

Die Summenkurve ergibt die stärkere P-Ausscheidung bei der halbmolaren Lösung, aber dicht bei 2 m NaCl liegend, ganz im Gegensatz zu der Ausscheidung von $Na^{\cdot}$ und besonders Cl'. Die Differenz zwischen diesen beiden extremen Versuchen erreicht nach der VI. Periode ihr Maximum und geht von da ab immer mehr bis auf ein Minimum zurück. Die Kurve nach Injektion der einfach molaren Lösung liegt immer im Abstand der beiden anderen. Der Abstand vergrößert sich bis ganz zuletzt dauernd.

Nach Fenn kommt es bei Erregung nicht nur zu einer Mobilisierung von $K^{\cdot}$, sondern auch in geringerem Ausmaß von Magnesium aus dem arbeitenden Muskel. Nach unseren Ausscheidungskurven ist eine Parallelität nicht zu sehen, wenn wir etwa $K^{\cdot}$ und $Mg^{\cdot\cdot}$ vergleichen, wie etwa in der Erregungswelle nach Belichtung [6]. Wir sehen gerade das Gegenteil,

nämlich, daß bei sinkendem $K^{\cdot}$ die Mg-Kurven ansteigen und bei steigendem $K^{\cdot}$ wiederum absinken. Wesentliche Unterschiede bei den einzelnen Konzentrationen sind nicht sichtbar, wenn auch die Summenkurven die stärkste Ausscheidung bei m/2 NaCl und die schwächste bei 1 molar nach einer vielfachen Überschneidung in den ersten Perioden zeigen. Auch an diesen Kurven ist nicht ersichtlich, daß das Ausmaß der Diurese für die Ausscheidung führend ist.

Bei Calcium, das nicht durch Arbeit aus dem Muskel bewegt wird, sehen wir einen ganz ähnlichen Verlauf wie beim Mg, die größte Ausscheidung bei der konzentrierten Lösung, aber im allgemeinen auch das Abklingen gegen Ende des Versuchs. Hier hebt sich nun die halbmolare Lösung besonders bemerkenswert heraus. Gerade in der zweiten Phase des Versuchs gibt sie Ausscheidungswerte, die an Höhe dem ersten Maximum nahekommen. Das zeigt sich auch an der Summenkurve, die die vorher auf den höchsten Werten liegende Kurve nach 2 molar NaCl einholt und schneidet. Wie schon vorher sehen wir hier in der Gesamtwirkung der halbmolaren Lösung durchaus nicht die Fortsetzung der anderen beiden von uns angewandten Konzentrationen. Wir wiesen in der Einleitung auf den früheren Befund hin, daß bei der dünneren Lösung die Herzen der toten Frösche in Systole stehenblieben, im Gegensatz zu den anderen. Wir sehen im gesamten verminderte Mobilisierung von $K^{\cdot}$ und in der zweiten Versuchshälfte vermehrte Mobilisierung von Calcium. Beide Bedingungen sind geeignet, die Beobachtungen am Herzen verständlich zu machen. Man wird als Einwand darauf hinweisen können, daß gerade die gegenüber den höheren Konzentrationen verminderte Mobilisierung von $K^{\cdot}$ zu einer Zeit stattfindet, in der der Ca-Stoffwechsel keine Unterschiede aufweist, und umgekehrt, mit anderen Worten, daß die Vorgänge zeitlich nicht kongruent sind. Dieser Einwand ist nur zum Teil richtig, denn wir wandten ja keine letalen Dosen an und bei diesen könnten sich die Verhältnisse durchaus überlagern.

Für $Ca^{\cdot\cdot}$ und $Mg^{\cdot\cdot}$ gemeinsam sind die absoluten Zahlen der Ausscheidung im Vergleich zu den Normalwerten der vorhergehenden Arbeit [6]. Während sich für $K^{\cdot}$ und P die Ausscheidung in der Größenordnung der Normalausscheidung bewegt, wenigstens, wenn man nicht die Durchschnitte, sondern die großen Werte bei den kurzen Perioden dagegenhält (Abb. 1 der Arbeit [6]), ist hier die Ausscheidung in jedem Falle, besonders beim $Mg^{\cdot\cdot}$, weit überwiegend. Diese Frage werden wir in dem nächsten Abschnitt noch diskutieren.

Versuch einer quantitativen Auswertung.

Wir schließen uns hier eng an den gleichen Abschnitt der vorigen Arbeit [6] an und berechnen die betreffenden Quotienten, wie es dort angegeben wurde. Den Verlauf dieser Werte geben wir in Abb. 4 wieder und vergleichen ihn mit den normalen Werten.

Auch hier wurde wie in den vorherigen Versuchen K' als Vergleichsion für Umsetzungen im Muskel gewählt und durch eine Zahl dividiert, die sich als Normalfaktor ergibt, wenn derselbe Quotient bei der Aschenanalyse des Muskels nach den Werten von Fenn[13] gebildet wird. Wenn die ausgeschiedene Substanz aus dem Muskel stammte, ähnlich wie es vom K' in erster Annäherung angenommen wird, dann muß der Wert 1 resultieren. Diese Betrachtung ist berechtigt, weil die Ionen der Hofmeisterschen

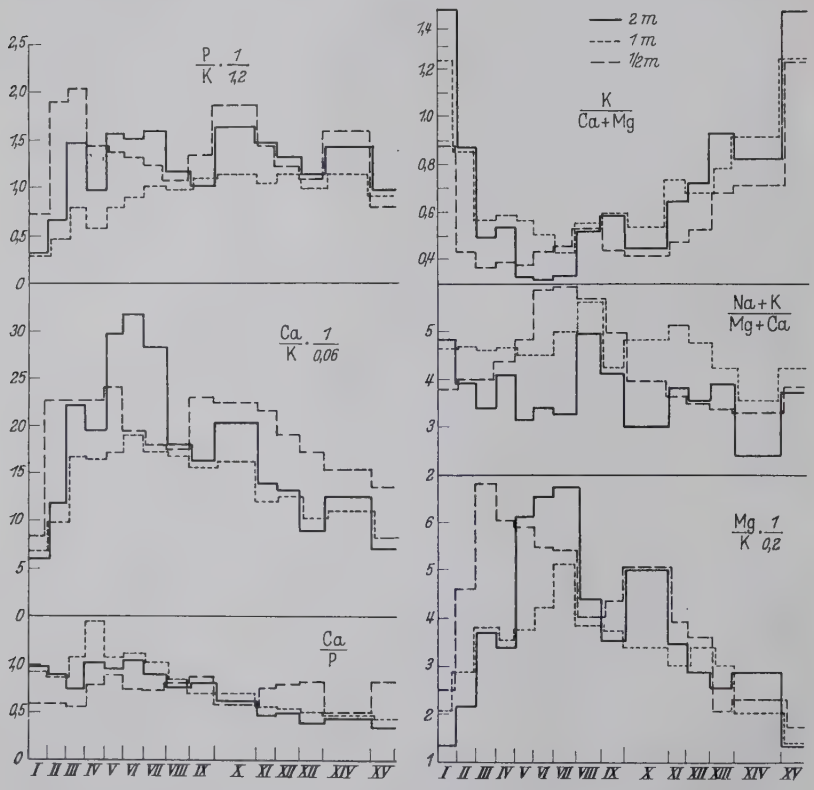


Abb. 4.
Bildung von verschiedenen Quotienten, die zum Teil verglichen werden mit den Analysen der Muskeln. Die Ordinaten bedeuten also einfache Zahlen der Dimension nach.
Abszisse: Zeit in Perioden.
—— 2 molare
------ 1 molare
— — — 1/2 molare
} Lösung.

Reihe, wenigstens soweit sie dem stark lyotropen Ende angehören, nach dem Vergiftungsbild ihren Hauptangriffspunkt in der Muskulatur haben. Außerdem wurden noch einige Quotienten von allgemeiner Bedeutung

gebildet, um einen Eindruck über die Herkunft der Ionen zu gewinnen, z. B. bei dem Quotient Ca/P. Dieser Quotient müßte bei Herkunft von Ca" und P aus den Knochensalzen den Wert 1 annehmen. Im normalen Versuch (Arbeit [6], Abb. 3) erreichte er aber diesen Wert nicht, sondern lag meistens nur um 0,3 und darunter. Es mußte also eine Mobilisierung von P aus anderen Quellen stattfinden, was aber nicht in dem Quotienten von P/K, der um 1 lag, einen Ausdruck fand.

Hier haben wir zuerst die 2 molare Lösung zu betrachten. Der Wert Ca/P ist in den ersten sechs Perioden kaum von 1 unterschieden, ausgenommen durch den Abstieg in der II. und III. Periode. Dieser Abstieg ist aber verständlich aus der anfänglichen teilweisen Mobilisierung von P nach Abb. 3a. Man wird also den Schluß ziehen wollen, daß Ca" und P aus den Knochensalzen mobilisiert werden. Auch bei 1 molarer Lösung wird derselbe Vorgang noch möglich sein, während m/2 NaCl deutlich kleinere Werte aufzeigt. Die Mobilisierung wird aber gerade bei dieser Lösung nicht ohne weiteres aus dem Muskel zu erklären sein (wie ein Blick auf den Quotienten P/K deutlich macht). Dafür finden wir später größere Quotienten Ca/P gegen Ende des Versuchs. Dieser Anstieg ist bedingt durch die schon erwähnte Ca-Mobilisierung. Die Versuche mit den beiden anderen Konzentrationen zeigen einen Abfall, der sich aus dem Anstieg der P- und dem Abfall der Ca-Ausscheidung auch ohne Rechnung aus Abb. 3 entnehmen läßt. Auf Mobilisierung von Knochensalzen deutet auch der Verlauf des Quotienten Ca/K · 0,06. Die Werte übertreffen mit Größen bis zu 30 den zu erwartenden Wert um mehr als eine Größenordnung. Dasselbe ist bei Mg/K ersichtlich. Mg/K und Ca/K — weniger P/K — übertreffen die Normalzahlen des vorigen Versuchs.

Im ganzen steht also eine Mobilisierung von Ca" und Mg" im Vordergrunde. Man kann nun versuchen, die Quelle dieser beiden Substanzen aufzusuchen. Da Ca" aus dem Muskel während der Erregung nach Fenn nicht mobilisiert werden soll, wird die größte Wahrscheinlichkeit für den Knochen sprechen, zumal im Skelet die überwiegenden Ca-Depots des Organismus liegen. Es ist bis zu einem gewissen Grade anscheinend nicht notwendig, daß gleich zwangsläufig auch Phosphat mobilisiert wird, wie neben unseren Normalversuchen [6] vor allem auch die Befunde von Gamble, Ross und Tisdall [9] erweisen. Aber Mg" kann nicht dorther stammen. Nach Analyse besteht der Knochen des Frosches zu 26,09% aus Ca und nur zu 0,4% aus Mg [14]. Da die absoluten Mengen beider Erdalkalien bei der Ausscheidung etwa gleich groß sind, ist damit der Zwang gegeben, daß nur die Weichteile als Ursprungsstelle für Mg" in Frage kommen (es sei denn, daß Mg im Knochen besonders leicht mobilisierbar ist). Tatsächlich wurde aber Mg" aus dem Muskel in relativ vielfach größerer

[14] Tabulae biologicae Bd. III (1926).

Menge (Abb. 4) abgegeben als Kalium, so daß noch andere Quellen einzusetzen sind.

Man kann den Versuch machen, den Ursprung dieser Ausscheidungen auf ein gemeinsames Prinzip zurückzuführen. Dazu gehört als erstes die Nebenschilddrüse. Nach Gabe von Parathormon findet man zuerst die vermehrte Ausscheidung von PO_4 im Vordergrunde. Eine Mobilisierung von $Ca^{\cdot\cdot}$ spielt danach eine wichtige Rolle, aber eine Mg-Ausscheidung ist nur kursorisch nachweisbar[15]. Diese Beobachtungen entsprechen nicht den Forderungen. Phosphat wird nur verzögert ausgeschieden oder gar nicht, steigt dagegen im zweiten Teil des Versuchs an, dagegen ist die Abgabe von $Ca^{\cdot\cdot}$ und $Mg^{\cdot\cdot}$ zeitlich kongruent und weit überragend. Diesem wird aber die Annahme einer Acidose wenigstens qualitativ gerecht, der sowohl die Mobilisierung von $Ca^{\cdot\cdot}$ aus dem Knochen als auch von $Mg^{\cdot\cdot}$ aus den Weichteilen entspricht[15]. Die P-Abgabe wird dieser Bedingung nach dem zeitlichen Verlauf nur anfangs gerecht. Eine Acidose ist aber nach Behrens bestimmt zu erwarten (siehe darüber die folgende Arbeit[20]).

Diese Effekte befriedigen aber auch eine andere funktionelle Betrachtung. Wenn wir eine vermehrte Ausscheidung z. B. von $Ca^{\cdot\cdot}$ und $Mg^{\cdot\cdot}$ beobachteten, dann wird die Herkunft ganz wesentlich sein. Das lehren uns Untersuchungen über die Ca-Abgabe im tetanischen Anfall. Nach Nebenschilddrüsenexstirpation bei Katzen[16, 17] sank der Ca-Spiegel im Blute. Nach Krampfanfällen stieg er an, und zwar durch Abgabe von $Ca^{\cdot\cdot}$ aus der Muskulatur. Der Vorgang der Erhöhung von $Ca^{\cdot\cdot}$ war durchaus regulativ, indem die Anfälligkeit für Krämpfe auch des Zentralnervensystems damit vermindert wird. Für die Muskeln selbst ist das aber nicht zweckmäßig, denn dadurch konnten sie leichter in Zustände der Dauerstarre gelangen. Umgekehrt werden Starrezustände, auch Krämpfe jeder Art, durch Erhöhung des Plasma-Ca verhindert. Durch Mobilisierung des $Ca^{\cdot\cdot}$ aus den Depots des Knochens wird also ein wohltätiger Effekt auf das sich entwickelnde Vergiftungsbild erzielt. Damit erweist sich die entwickelnde Acidose nicht nur im Netterschen Sinne durch Erniedrigung des osmotischen Druckes, sondern auch nach unserer Darstellung als zweckmäßig. Genau so muß es sich mit $Mg^{\cdot\cdot}$ verhalten, dessen lähmende Wirkung auf die Nervenendplatten bekannt ist, ebenso wie es eine Tetanie durch Mg-Mangel gibt[15]. Diese lähmende Wirkung ist antagonistisch der erregenden Wirkung des NaCl. Durch Gabe von NaCl treten im Vergiftungsbild vielfach fibrilläre Muskelzuckungen auf. Wenn wir — wie durchaus berechtigt — in der Ausscheidung ein Zeichen der Mobilisierung sehen, dann werden wir in der Summe die größte Mobilisierung bei der m/2 NaCl, die geringste aber bei m/1 NaCl sehen. Da die Giftigkeit mit

[15] Greenberg, D. M.: Annual Rev. Biochem. (Am.) **8**, 290 (1939). Literatur. — [16] Coombs, H. C., F. H. Pike u. D. S. Sciasle: Endocrinology **19**, 421 (1935). — [17] Pike, F. H., J. Notkin, H. C. Coombs u. S. M. Wenigrow, Amer. J. Psychiatry **12**, 947 (1933).

der Konzentration steigt, ist also die Gegenregulation nicht in der Lage, die zusätzliche osmotische Wirkung von 2 molarer Lösung zu kompensieren (siehe darüber unten).

Eine Illustration für die regulativen Verhältnisse, deren Mittelglied nach unserer heutigen Darstellung die von Behrens gefundene Acidose wäre, gibt erst der Verlauf des Loebschen Tetaniequotienten $\frac{Na + K}{Ca + Mg}$. Steigen dieses Quotienten begünstigt die Tetanie, Sinken zeigt das Eintreten regulativer Vorgänge. Auf Abb. 4 ist nun bei der 2 molaren Lösung solch ein Sinken bemerkbar, und zwar auf Werte, die den Werten entsprechen, wie wir sie auf Abb. 2 der vorigen Arbeit [6] in der Dunkelheit und schließlich als regulative Maßnahme bei der Erregung nach Belichtung fanden. Bei den beiden anderen Versuchen ist dieser Effekt nicht zu sehen, sondern sogar ein Anstieg.

Bei diesem Verlauf zeigt es sich, daß die Ausscheidungswerte durchaus nur mit Überlegung den wirksamen Verhältnissen im Blutplasma gleichgesetzt werden dürfen, denn gerade die stärkste Ausscheidung der m/2-Lösung von NaCl geschieht nicht durch besonders hohe Werte von $Na^{\cdot}$ im Plasma, sondern durch die Menge des zur Verfügung gestellten Lösungswassers. Dieses ist von Bedeutung wegen der beschränkten Konzentrationsfähigkeit der Froschniere für NaCl und weil wir durch die Höhe der Gabe (etwa der neunte Teil der mittleren tödlichen Dosis) die stärksten Anforderungen an die regulativen Fähigkeiten des Frosches stellten. Damit aber verliert der Quotient an Wert und wir zogen es vor, unter Auslassen des Na den Quotienten $\frac{K}{Ca + Mg}$ allein zu betrachten. Dieser Quotient ist für die Frage der Starrewirkung, die für uns ja noch wichtiger ist als die Tetanie, von größerer Bedeutung, da $K^{\cdot}$ an sich Starre zu verursachen vermag, ebenso wie $Ca^{\cdot\cdot}$ und Mg Antagonisten sind. Jetzt sehen wir auf Abb. 4 die systematische Senkung mit dem Minimum gerade zu der Zeit, in der in den Versuchen mit manifest toxischen Dosen [1] die Erkrankung beginnt. Der Loebsche Quotient würde nicht rein die periphere Starrewirkung, sondern auch noch die zentrale Wirkung und die der Nervenendplatte in den Vordergrund rücken.

Inwieweit der zuletzt bei $\frac{K}{Ca + Mg}$ erfolgende Anstieg einen Restitutionsprozeß bedeutet, kann nur eine Betrachtung lehren, wie der Endzustand ist, in dem die Frösche den Versuch verlassen.

Endzustand.

Wir fragen uns, welche Mineralstoffe die Frösche insgesamt am Ende des Versuchs eingebüßt haben und ob in gewissem Sinne ein Gleichgewicht erreicht worden ist. Wir vergleichen zu diesem Zweck die Endausscheidungen mit der Menge, die nach der Analyse unserer Arbeit [6]

in Tabelle 2 niedergelegt sind. Die Zahlen in folgender Tabelle 2 sind die Veränderungen im Mineralbestand des Organismus als Prozent der vorher vorhandenen Menge wiedergegeben. Die Werte für $Mg^{\cdot\cdot}$, P, $Ca^{\cdot\cdot}$ und $K^{\cdot}$ bedeuten dabei Verlust, $Na^{\cdot}$ aber Gewinn.

Tabelle 2.

Lösung	Mg	P	Ca	K	Na
2 molar	4,19	0,38	0,27	2,90	+ 5,96
1 „	3,78	0,29	0,22	2,77	+ 4,45
1/2 „	4,26	0,39	0,29	2,49	+ 1,72
Durchschnitt	4,08	0,35	0,26	2,65	+ 4,03

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß der Verlust durchaus unterschiedlich ist. Vor allem ragt die Ausscheidung von $Mg^{\cdot\cdot}$ hervor, während $K^{\cdot}$ dann folgt. Die Reserven an $Ca^{\cdot\cdot}$ und P sind viel weniger angegriffen, was auch bei der Beständigkeit des Skelets durchaus verständlich ist. Nach diesen Werten werden wir die am Schluß des letzten Abschnitts gestellte Frage verneinen müssen. Wohl könnte die Abnahme der Mg-Ausscheidung in diese Richtung deuten, nicht aber die Zunahme der K-Abgabe. Für eine Ca-Einsparung besteht hiernach gar kein Bedürfnis, andererseits stimmt die Ausscheidung von P im zweiten Teil des Versuchs nicht mit Ca überein. Man wird die Quellen entsprechend der Größe von Ca/P verschieden annehmen müssen.

Wir würden aus der Gesamtheit der Werte den Schluß ziehen können, daß die Vergiftung vorwiegend verläuft mit Verlusten an $Mg^{\cdot\cdot}$ und würden darin eine Ursache der langdauernden Vergiftung zu erblicken versuchen. Gegen diese Auffassung scheint zu sprechen, daß die m/2-Lösung die größte Ausscheidung zeigt, und doch ist sie die am wenigsten giftige *.

Dieser Einwand ist nicht mehr berechtigt, wenn man die viel größeren im Organismus verbleibenden Na-Mengen bei den anderen Konzentrationen

* Eigene Versuche beschäftigten sich mit der Giftigkeit der NaCl-Lösungen für Frösche und kamen für die kurzdauernde Beobachtung (d. h. 48 Stunden) zu folgenden mittleren tödlichen Dosen:

1 molare Lösung ..... 98 mMol NaCl/kg
2 „ „ ..... 94 „ „
4 „ „ ..... 92 „ „

In jeder Versuchsgruppe befanden sich 6—10 Frösche. Eine halbmolare Lösung wurde wegen der übergroßen Flüssigkeitsmenge nicht gespritzt. Diese Befunde scheinen den früheren Versuchen von Behrens [18] zu widersprechen, der bei Mäusen nicht die größte Giftigkeit bei den konzentrierten Lösungen fand. Jedoch erfolgte bei ihm die Zufuhr peroral, so daß die der Resorption vorhergehende Exsudation in dem Magen-Darmkanal die Überschwemmung des Organismus verlangsamte. Dieser Mechanismus spielt bei unseren Versuchen mit Injektion in den Lymphsack keine Rolle. Wir werden also die dünnere Lösung mit Extrapolation als die weniger giftige auffassen können, wofür auch die viel bessere Ausscheidung in unseren Versuchen spricht.

[18] Behrens, B.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **103**, 39 (1924).

in Rechnung setzt. Man wird so formulieren können: Damit die beiden anderen Lösungen (2 m und m/1) zu derselben Ausscheidung von NaCl gelangen, wird die gleichzeitige Ausscheidung von $Mg^{\cdot\cdot}$ noch beträchtlich ansteigen müssen. Ein kurzer Überschlag zeigt, daß mindestens drei Perioden von je 5 Stunden für diesen Zweck notwendig wären, so daß dann die Anteile entsprechend Tabelle 2 beträchtlich übertroffen werden. Dann zeigt sich die Reihenfolge direkt steigend mit der Konzentration und Giftigkeit. Daß ein gewisser Mangel an Mg in manchen Zellen möglich ist und als ursächlicher Faktor für die Giftwirkung in Frage kommt, ist also nicht von der Hand zu weisen.

Diskussion.

Wir haben die Mobilisierung von $Mg^{\cdot\cdot}$ als einen Regulationsvorgang aufgefaßt. Die hier dargestellte Möglichkeit macht aber gewissermaßen stillschweigend von der bekannten lähmenden Eigenschaft des $Mg^{\cdot\cdot}$ auf die Nervenendplatten Gebrauch. Dieser Wirkung für größere parenterale Gaben, z. B. von $MgSO_4$, wird hier eine physiologische Rolle zugeschrieben. Wenn wir das klar sehen — und man wird wohl eine solche Funktion nicht gut ableugnen können — ergibt sich auch das Verständnis für bestimmte Bilder der $Na^{\cdot}$-Vergiftung. Nach größeren Gaben von NaCl, aber auch von anderen Na-Salzen findet man an den Muskeln vielfach fibrilläre Zuckungen. Das Vergiftungsbild ist ganz analog den Erscheinungen nach großen Gaben von Physostigmin. Von diesem wissen wir die Ursache in der Hemmung der Cholinesterase und dem Azetylcholinmechanismus der Nervenerregung in der Nervenendplatte, worüber wir vor allen Dingen durch die Untersuchungen von Dale und seinen Mitarbeitern unterrichtet sind. Beim $Na^{\cdot}$ ist eine Einwirkung auf diesen Mechanismus nicht bekannt und auch nicht zu erwarten. Aber es kann hier ein zweiter Vorgang von Bedeutung werden, der mit der Funktion von $Mg^{\cdot\cdot}$ zusammenhängt. Wird dieses durch $Na^{\cdot}$ aus seiner Stellung verdrängt, dann kann es leichter zu Entladungen der Erregung kommen. Die Gesamtmobilisierung wäre dann ein allgemeiner regulativer Prozeß, um die lokale Verarmung zu verhindern, wie es beim $Ca^{\cdot\cdot}$ bei der Tetanie stattfindet. Nun wirkt $Ca^{\cdot\cdot}$ am isolierten Muskel ähnlich $Mg^{\cdot\cdot}$, um die Zuckungen nach reinem NaCl zu verhindern [19], aber die spezielle Bedeutung von $Mg^{\cdot\cdot}$ wird ersichtlich aus den Verhältnissen bei der Vergiftung mit NaJ [20]. Wir kennen auch eine Mg-Tetanie durch Mg-Mangel. Andererseits findet sich bei der echten Tetanie neben einer Erniedrigung des Ca-Gehaltes eine Erhöhung des P und $Mg^{\cdot\cdot}$ im Plasma [21]. Da während der Rachitis $Mg^{\cdot\cdot}$ erniedrigt ist, wird man auch hier den Versuch zu einer Regulation ins Auge fassen müssen.

[19] Neuschloss, S. M.: Bethes Handbuch der Physiologie **8**, 1, 261 (1925). — [20] Eichler, O. u. L.: Siehe die beiden folgenden Publikationen. — [21] Heubner, W.: Bethes Handbuch der Physiologie **16**, 2, 1419 (1931).

Zusammenfassung.

Die Ausscheidung von 10 mMol/kg NaCl, verabreicht in 2 molarer, 1 molarer und $^1/_2$ molarer Lösung und ihre Wirkung auf den Mineralstoffwechsel wird bei je 60 Fröschen 77 Stunden lang nach der Injektion in den Lymphsack verfolgt. Die Ausscheidung ist am stärksten bei m/2 NaCl, sinkend mit der Abnahme des Lösungswassers. Systematisch ist zuerst die Ausscheidung von $Na^{\cdot}$ schwächer als von Cl', dann folgt eine umgekehrte Periode, mit Rückkehr zu den Verhältnissen wie am Anfang. Die Gesamtbasen werden aber immer in höheren Äquivalenten ausgeschieden.

Die Ausscheidung von $K^{\cdot}$ und P zeigt anfangs, bedingt zum Teil durch Aufregung, höhere Werte, dann folgt ein Minimum mit sekundärem Anstieg. Eine Verdrängung des $K^{\cdot}$ durch $Na^{\cdot}$ ist nicht zu bemerken.

Während des Minimums der K-Ausscheidung zeigt sich ein Maximum in der Ausscheidung von $Mg^{\cdot\cdot}$ und $Ca^{\cdot\cdot}$. Die Ausscheidung dieser Substanzen ist der auffallendste Effekt der NaCl-Gabe. Sie werden ermöglicht durch Acidose und lassen sich erklären durch einen regulativen Vorgang im Sinne einer Verminderung von Starre und Erregung.

Am Ende des Versuchs zeigte das $Mg^{\cdot\cdot}$ den prozentual größten Verlust (4%) und es wird für möglich gehalten, daß der Verlust auch zu Störungen im Gewebe durchaus Anlaß geben könnte.

Eine Entscheidung, ob dem $Na^{\cdot}$ oder Cl' die Hauptwirkung zuzuschreiben ist, ist nicht zu geben, da die acidotische Wirkung des NaCl nicht ohne Cl' zu denken ist, das sich also etwa durch HCO_3' nicht ersetzen läßt. Wohl aber werden wir den Verlust von $Mg^{\cdot\cdot}$, wie später noch gezeigt wird, in erster Linie dem Na zuschreiben müssen.

Aus dem Institut für Pharmakologie und exper. Therapie der Universität Breslau.
(Direktor: Prof. Dr. O. Eichler.)

Wirkung von Natriumjodid in verschiedenen Konzentrationen auf die Ausscheidung anorganischer Substanzen beim Frosch*.

Von

Oskar Eichler und **Lore Eichler.**

Mit 6 Textabbildungen.

(*Eingegangen am 25. November 1941.*)

Die hier mitgeteilte Untersuchung schließt sich eng an die vorige [1] an und ergab sich aus dem Plan einer allgemeinen Untersuchung der Hofmeisterschen Reihe [2]. Dabei sollten jedoch nur die Ionen der positiv lyotropen quellenden Seite der Reihe in Betracht gezogen werden, und zwar nicht nur, weil die Substanzen der anderen Seite wie SO_4 eine häufige – wenn auch keine so gründliche — Untersuchung gefunden haben, sondern auch weil hier chemische Reaktionen komplizierend eingreifen. So führt z. B. PO_4 und F' zur Fällung von Calcium, außerdem liegen vielwertige Ionen verschiedener Valenz vor, wodurch ungewollte kolloidchemische Einwirkungen das Resultat unübersichtlich gestalten.

Alle diese Komplikationen sind bei der anderen Seite nicht vorhanden. Die Ionen sind einwertig, die Na-Salze reagieren neutral und bekannte chemische Reaktionen einfacher Natur sind nicht zu fürchten. Zum Überfluß kommt dazu noch die Identität der Vergiftungsbilder bei den extremeren Gliedern [3] wie ClO_4' und SCN', denen sich auch Jodid einfügt. Aber schon beim Jodid kommen andere Momente hinzu, die den Anschluß an die Wirkung von NaCl liefern. Die Wirkung von NaCl ist ebensowohl eine Wirkung des Anions wie des Kations. Die Ungiftigkeit zwingt, osmotische Wirkungen hinzuzufügen, will man in den Bereich der toxischen Lösung gelangen. Vorwiegend wird das Na-Ion bestimmte Effekte veranlassen und störend wirken.

Das vorherrschende Symptom bei der Vergiftung mit NaCl sind die fibrillären Muskelzuckungen. Schließlich kann auch hier eine regelrechte Starre resultieren, aber nie so glatt und konsequent wie beim SCN' oder ClO_4'. Die Störung durch das notwendig beigegebene $Na^{\cdot}$ wird um so mehr ins Auge fallen, je weniger wirksam das Anion ist, und so steht J' in der

* Die Versuche wurden im Winter 1932/33 ausgeführt und durch eine Beihilfe der damaligen Notgemeinschaft der deutschen Wissenschaft ermöglicht.

[1] Eichler, O. u. L.: Siehe vorhergehende Arbeit. — [2] Eichler, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **154**, 59 (1930). — [3] Eichler, O.: Ebenda **144**, 251 (1929).

Mitte, indem es zwar 4fach giftiger ist als Cl′, aber 6—7mal weniger giftig als SCN′ und ClO_4'. Um doch die spezifische Anionenwirkung abzuschätzen und rein zu erhalten, mußte dieselbe Menge Na J gegeben werden wie vorher NaCl, wobei aber die Dosis bis zu etwa 50% der als mittlere tödliche Dosis festgestellten Menge anstieg.

Methodik.

Das Verfahren schließt sich eng an das eben bei NaCl befolgte.

Je 60 Frösche (Temporarien der Rheinniederung bei Kehl, Januar 1932) wurden 2 Tage bei der Temperatur des Laboratoriums gelassen, bevor sie die Na J-Dosen erhielten. Die Dosis betrug 10 mMol/kg, die in 2 molarer, 1 molarer und $^1/_2$ molarer Lösung in den Bauchlymphsack gegeben wurde. Die Periodenlänge. Tageszeiten und Dauer des Versuchs von 77 Stunden glichen einander völlig. Es wurde sogar so verfahren, daß die Versuche in zeitlicher Reihenfolge alternierend angestellt wurden, d. h. zuerst fand der Versuch mit 2 m NaCl, darauf der mit 2 m Na J statt. Diesem folgte ohne Pause 1 m NaCl usw. Es sollte dadurch vermieden werden, daß das Froschmaterial sich änderte. Zwar bleibt es im Januar gerade am meisten konstant, aber immerhin mußte man den Einwand vermeiden, daß die Frösche andere waren, wenn etwa zuerst hintereinander die Versuche mit NaCl, dann die mit Na J folgten. Es sollte also ein Vergleich möglich sein. Darüber soll aber hier nicht gesprochen werden, sondern das möge einer gesonderten, anschließenden Arbeit vorbehalten bleiben.

Die chemische Methodik entsprach ebenso der früheren Arbeit. So wurden Mikroanalysen ausgeführt von K˙, Ca˙˙, Mg˙˙, P und Na˙. Die Bestimmung von Cl′ mit Ag-Fällung betraf jetzt das Gesamthalogen und wurde ergänzt durch die immer geübte und für unsere Zwecke zuverlässige Methode der Jodbestimmung von Kendall[4]. Die Werte für Cl wurden also aus der Differenz [Gesamthalogene]—[Jodid] errechnet. Jeder mitgeteilte Wert basiert auf Doppelbestimmungen. deren Übereinstimmung ebenso mit den sonstigen Methoden in der ersten Arbeit[5] dieser Reihe dargestellt wurde. Insgesamt berichten wir also über 630 Analysen.

Die Ausscheidung von Jodid.

Darüber liegen schon Versuche vor[2]. Damals wurde dieselbe Dosis angewandt, allerdings war die Zeit des Abdrückens der Tiere teils kürzer, teils länger, d. h. sie erfüllten die von uns oben[5] aufgestellten Forderungen nur zum Teil. Außerdem ist jetzt gegenüber den Versuchen vom Winter 1930 nicht nur die molare und 2 molare, sondern auch die halbmolare Lösung untersucht worden, so daß die früheren Schlüsse jetzt zu einer tieferen Fundierung gelangen können. Deshalb seien unsere jetzigen Resultate nach den damaligen Prinzipien untersucht und verglichen. Die Ausscheidung bei den drei Konzentrationen geben wir in der vorliegenden Arbeit in Abb. 1 wieder.

Aus der Summenkurve ist ersichtlich, daß auch bei unseren jetzigen Versuchen die Ausscheidung der dünnen Lösung stärker ist als die der kon-

---

[4] Kendall: J. biol. Chem. (Am.) **20**, 501 (1915). — [5] Eichler, O. u. L.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **199**, die vorletzte Arbeit.

zentrierteren. m/1 Na J macht am Anfang eine Ausnahme, holt aber nach und ordnet sich schließlich dem allgemeinen Gesetz unter, ebenso wie vorher das Na Cl. Das vorübergehende Nachhinken ist bedingt — wie wir auf der linken Kurve der Abb. 1 sehen — durch ein Versagen in den ersten vier Perioden, schon von der fünften beginnt der Ausgleich, d. h. nähern sich die Summenkurven. Ein Teil der anfänglichen Verzögerung mag an einer langsameren Resorption liegen, da natürlich größere Flüssigkeitsmengen langsamer fortbewegt werden als kleinere. Wenn wir dieses Argument nicht einfach auf m/2 Na J übertragen können, dann ist das dadurch

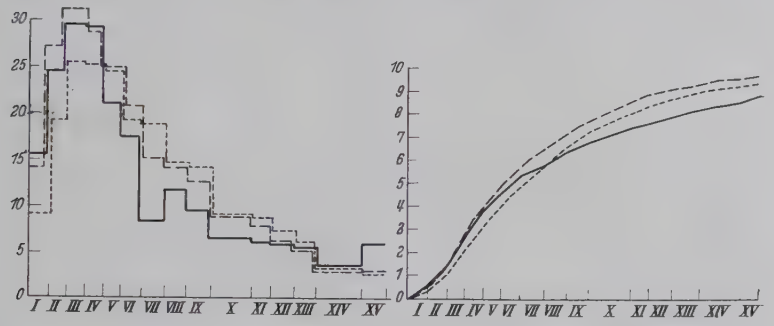


Abb. 1.
Ausscheidung von Jodid nach Gabe von 10 mMol/kg. – 2 molare, ------ 1 molare, — — — $^1/_2$ molare Lösung.
Abszisse: Zeit in Perioden. Ordinate: linke Kurve $^1/_{100}$ mMol/kg/Stunde; rechte Kurve Summenkurve in mMol.

plausibel, daß die halbmolare Lösung sofort das Lösungs- und Ausscheidungswasser mit sich führt und in geringerem Ausmaß Zeit zur Mobilisierung des Wassers aus den Geweben verbraucht. Daß hierbei die lokale Gewebsschädigung und Mobilisierung von $K^{\cdot}$ (s. später) eine Rolle spielen könnten, sei nur nebenbei erwähnt. Jedenfalls ist die Bedeutung des Lösungswassers auch in diesen Versuchen dargetan. Jedoch ist eine damals[2] vorgetragene weitere Schlußform zu korrigieren.

Wir konstruierten eine Reihe von Parametern, indem wir die Ausscheidungsgeschwindigkeit * von Jodid in erster Annäherung proportional setzten der im Organismus des Tieres vorhandenen Menge $(100-y)$, also

$$\frac{dy}{dt} = c\,(100 - y).$$

Wir erhalten aus der einfachen Integration die Konstante

$$c_n = \frac{l}{t_n} \cdot \frac{\log 100 - \log (100 - y_n)}{\log e}$$

* dy/dt mit y = der ausgeschiedenen Menge in % der verabfolgten Menge; t = Zeit, rechnend vom Anfang des Versuchs.

Die Grundannahme für diese Gleichung, daß die Ausscheidung proportional der im Organismus vorhandenen Menge sei, ist natürlich noch infolge mancherlei Abweichungen, z. B. am Anfang durch die Resorption fehlerhaft. Wir finden sie ebenso abhängig von der verfügbaren Wassermenge.

Damit muß die Konstante c in ihrer Größe mit der Zeit wechseln, sie wird zum Parameter. Dieser müßte steigen, wenn die verfügbaren Flüssigkeitsmengen zunehmen, sonst aber abnehmen, immer vorausgesetzt, daß kein prinzipieller weiterer Faktor eine Rolle spielt. Solch ein Faktor wurde aber von uns in der Größe des Zeitintervalls zwischen den Urinentnahmen gefunden. Werden die Frösche häufig abgedrückt, dann wird das Jodid aus dem Organismus sofort entfernt und ein innerer Kreislauf infolge Resorption aus dem Darm wird vermieden. In den damaligen Versuchen wurde dieser Vorgang nicht beachtet und dadurch wurde eine Senkung des Parameters erreicht, ohne daß mit Sicherheit der Beweis einer Mobilisierung von Wasser zu bestimmter Zeit erbracht wäre *. Wir legen in Abb. 2 die Kurve der aus unseren Versuchen errechneten Parameter vor. Die absolute Größe, in der sich die Werte bewegen, entspricht dem damaligen Versuch, aber der Verlauf ist nur im allgemeinen, nicht aber in Einzelheiten gleich. Durch die größere Zahl von Fröschen verlaufen unsere jetzigen Kurven viel glatter und stetiger. Dann wurden jetzt größere Prozentsätze Jodid in 77 Stunden als damals in 100 Stunden ausgeschieden. Hier dokumentiert sich vielleicht auch die Tatsache, daß die Frösche des Jahres 1930 nach dem heißen trockenen Sommer 1929 empfindlicher waren als in späteren Jahren. Die Bedeutung der Ausscheidung für die Empfindlichkeit wurde ausführlich behandelt [6]. Das kann zum kleinsten Teil an der schlechteren uns damals zur Verfügung stehenden Bestimmungsmethode gelegen haben, sondern eher am häufigeren Abdrücken in diesen Experimenten gerade während der letzten Stunden des Versuchs.

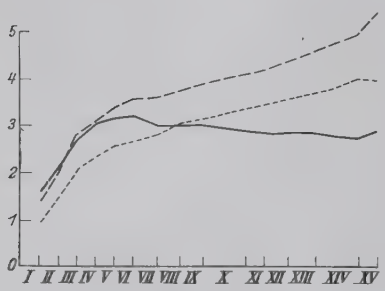


Abb. 2.
Kurve der Parameter c_n. Abszisse: Zeit in Perioden. Ordinate: $c_n \cdot 100$.
——— 2 molare, ------ 1 molare,
— — — $^1/_2$ molare Lösung.

Die Parameterkurven zeigen in Abb. 2 nur bei 2 molarem NaJ das Maximum in der 20. bis 30. Stunde. Dieses Maximum fällt in die Zeit der

* Die damals gewonnenen Kurven für Rhodanid sind zum Teil auch mit diesem Einwand belastet, halten aber bei der Analyse der Versuche diesem Einwand doch stand.

[6] Eichler, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **198**, 442 (1941).

Haupterkrankung und entspricht den Verhältnissen bei Rhodanid. Bei den anderen beiden Versuchen ist aber ein Maximum im Innern des zu beobachtenden Intervalls nicht sichtbar, sondern der Anstieg erfolgt (abgesehen von einem Punkt der m/1-Kurve) bis zuletzt. Wir haben nun genau so wie bei den vorherigen NaCl-Versuchen auch hier die Diurese roh abgeschätzt nach der Zahl der Frösche, bei denen wir durch Abdrücken einen Strahl Urin gewinnen konnten. Hierbei zeigte sich erstens gegenüber NaCl eine viel größere Urinabgabe und außerdem stieg sie bis zur 13. Periode an, würde also unserer allgemeinen Forderung gerecht werden. In den beiden letzten Perioden sank sie ab, ohne daß sich das in den Parameterkurven gezeigt hätte. Allerdings sind gerade diese Werte mit der größten Unsicherheit behaftet, weil kleine Fehler in der Analyse bei der Berechnung sich stark auswirken müssen. Wenn wir diesen Verlauf berücksichtigen gerade im Vergleich mit der 2 molaren Lösung, müssen wir schließen, daß das vermehrte Lösungswasser durchaus nicht sofort und unmittelbar den Nieren zur Ausscheidung zur Verfügung stehen, sondern erst in den Geweben vorübergehend deponiert wird, dann erst wieder disponibel in Erscheinung tritt. Im Zusammenhang mit der Wirkung von $Na^{\cdot}$ auf die Wasserspeicherung möchten wir darauf aufmerksam machen, daß nach Abb. 3 die Ausscheidung des von NaJ zugeführten $Na^{\cdot}$ ungefähr nach der 8. Periode beendet ist, also wo die Parameterwerte den neuerlichen Anstieg zeigen. Schlüsse daraus zu ziehen, ist nicht ohne weiteres statthaft, da auch die 2 molare Lösung sich nicht anders verhält, und trotzdem ist ein Anstieg der c_n nicht nachweisbar.

Ausscheidung von Chlorid und Natrium neben Jodid.

Die Resultate sind an dieser Stelle unerwartet, weil sich hier nicht wie bei NaCl eine Gleichheit des ausgeschiedenen $Na^{\cdot}$ mit Jodid oder auch nur Halogen darstellen läßt. Auf Abb. 3 geben wir die direkt erhaltenen ($Na^{\cdot}$) oder errechneten (Cl') Werte in beiden Darstellungsarten wie bisher. Auch beim $Na^{\cdot}$ ist die absolute Ausscheidung am größten bei der m/2-Lösung, wenn auch die Unterschiede klein sind. Bei 2 molarem NaJ ergibt sich eine gewisse Ähnlichkeit mit der Jodidkurve der Abb. 1. Beim Cl' finden wir anfangs eine gewisse Überlegenheit der Ausscheidung bei 2 molarer Lösung, aber schließlich bleibt die Ausscheidung hier zurück, obwohl die Jodidausscheidung gerade bei dieser Konzentration am schlechtesten war. Es handelt sich also nicht um einen partiellen Ersatz von Cl' durch J', wie es bei der Ausscheidung von Sulfat vorkommt, sondern beide Ionen werden gemeinsam schlecht ausgeschieden. Auf der Abteilung *b* der Abb. 3 haben wir das Verhältnis $\frac{\text{Halogen}}{J'}$, d. h. $\frac{Cl + J}{J}$ aufgezeichnet, und zwar für alle Versuche einzeln mit den Zahlen für jede Stunde als Grundlage (also nicht der Summenkurve).

In den ersten Perioden des Versuchs zeigt der Quotient eine regelrechte Verdrängung von Cl′ durch das Jodid an, so daß also Cl′ vermehrt zur Ausscheidung gelangt. Aber schon von der 2. bis 3. Periode an fällt die große Konstanz dieses Quotienten auf. Dabei sind die Konzentrationen, die der Niere durch das Plasma angeboten werden, doch außerordentlich variabel. Wenn man die Ausscheidungskurve bzw. den Ausscheidungsrest (Abb. 1) berücksichtigt, müssen die Konzentrationen im Durchschnitt

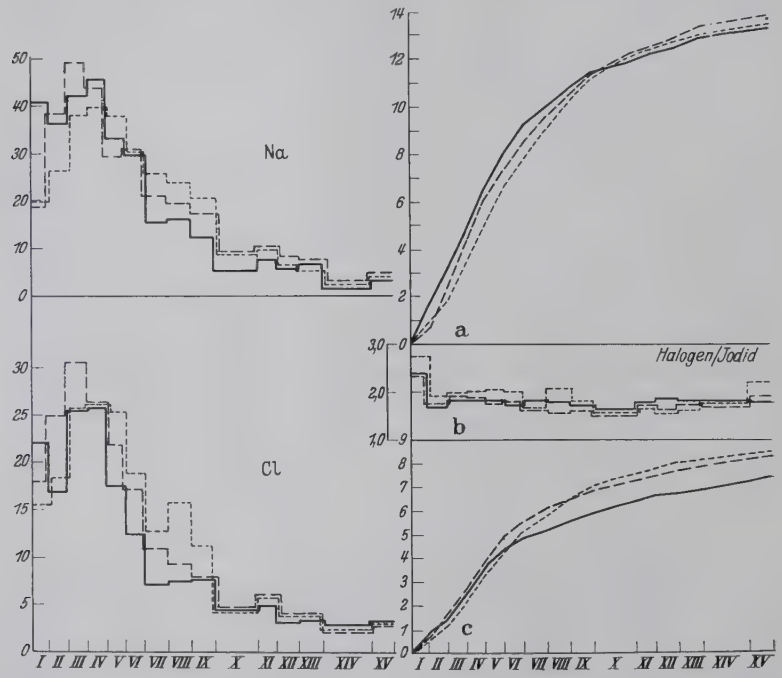


Abb. 3.
Ausscheidung von Na′ und Cl′. Abszisse: Zeit in Perioden. Ordinate: auf Kurve *a* und *c* links $^1/_{100}$ mMol/kg/Std.; rechts bei den Summenkurven mMol/kg. Kurve *b*: ist der Quotient $\frac{\text{Halogen}}{\text{Jodid}}$, dessen große Konstanz gezeigt werden soll, auch bei Rechnung der Stundenwerte.

wie 1 : 20 oder noch mehr schwanken. Natürlich ist nicht eine Formulierung gestattet, wie etwa: „die Niere ist blind gegenüber Jodid", wie es etwa bei Bromid in erster Annäherung üblich ist, denn erstens handelt es sich nicht um den Vergleich von Konzentrationen, sondern um absolute Werte, denn wir haben die Proportion im Plasma nicht bestimmt. Aber obwohl wir diese Proportion nicht festgelegt haben, würde man doch auf ganz verschiedene Proportionen kommen müssen, da ja die Werte im Plasma bei Gleichheit des osmotischen Druckes entsprechend der Ausscheidung und verschiedenen Konzentration für J′ wechseln müssen.

Die Ursache ist nach Überlegung nur in einer Einwirkung des Jodids auf die Niere zu suchen. Die Froschniere vermag das Chlorid bis zu einem kleinen Rest rückzuresorbieren. Wenn nun Jodid dargeboten wird, wird dieser Vorgang gehemmt, und zwar entsprechend der vorhandenen Jodidmenge, also am Anfang des Versuchs stark, zunehmend geringer. Man kann jetzt den weiteren Schluß ziehen, daß diese Beeinflussung nicht von der Blutseite herbeigeführt wird, sondern von der Seite der Harnkanälchen, weil wir bei den drei Konzentrationen die Konzentrationen im Blute etwa gleich anzunehmen hätten; sogar bei der am schlechtest ausgeschiedenen 2 molaren Lösung wird gerade am wenigsten abgegeben, das bedeutet aber nicht, am stärksten rückresorbiert. Die Beeinflussung von der Seite der Harnkanälchen wird verständlich aus den physikochemischen Eigenschaften des Jodids, das als hydrophobes Ion an die Oberfläche des Kanälchens herantritt und durchaus in der Lage ist, Chlorid von dieser zu verdrängen. Wenn wir versuchen den Vorgang der Rückresorption von Cl' irgendwie bildlich zu gestalten, werden wir als ersten Punkt dieses Transportes Stellen der Oberfläche mit entgegengesetzter, also positiver Ladung annehmen müssen. Diese werden durch das stärkere oberflächenaktive J' besetzt und so das Einfangen von Cl' unwahrscheinlicher machen, ohne daß dem räumlich größeren Jodion die gleiche Transportgeschwindigkeit zuteil wird.

Die hier mitgeteilten Vorstellungen können ohne Zwang erweitert werden, um die sogenannte Blindheit der Niere gegenüber Cl' und Br' unserer Anschauung zu erschließen. In der Hofmeisterschen Reihe sind die Ionen nach der Seite des SCN' und ClO_4' zu durch die Hydrophobie und die räumliche Größe des Ions ausgezeichnet. In den Harnkanälchen bedeutet die Tendenz an die Phasengrenze zu gehen, eine bessere Vorbedingung zur Resorption, dagegen die Größe des Partikels eine Verschlechterung. Der tatsächlich verlaufende Endvorgang ist eine Resultante dieser beiden Kräfte oder Tendenzen. Mit dem Übergang nach dem Chlorid zu wird die Anreicherung an der Grenze geringer und die Permeationswahrscheinlichkeit geringer, die Ionengröße nimmt ab und damit wird die Permeationsmöglichkeit besser. Br' hat die größere Wahrscheinlichkeit, zu den Resorptionspunkten zu gelangen, aber die Durchgangsart durch die größeren Durchmesser des Ions ist schlechter im Vergleich zu Cl'. Hier muß etwa eine gleichmäßige Behandlung durch die Niere erwartet werden, wenn beide Faktoren sich aufheben. Die Niere ist also durchaus nicht blind gegenüber Cl' und Br'. Die Gleichheit gilt auch nicht streng. Denn in Wirklichkeit besteht die Blindheit anscheinend zwar beim Kaninchen, wie zuletzt noch die Messungen von Möller ergaben, aber bei anderen Tierarten wird eher eine Retention von Br' erhalten, also die Ionengröße ist gegenüber Cl' nicht soviel nachteiliger, als die Hydrophobie einbringt. Daraus lassen sich Eindrücke über die Poren, durch die die Wanderung geschieht, gewinnen, wobei der weitere Prozeß des Transportes durch die Zelle natürlich völlig unbekannt bleibt. Das Verhalten der hydrophilen Ionen ergibt sich nach dieser Vorbereitung zwangsläufig, ebenso die Bedeutung der Hydratationshülle, aber alle diese Punkte will ich dem einzelnen zur Überlegung selbst überlassen. Jedenfalls lohnt sich hier eine systematische Prüfung. Uns lag es vorerst nur an der Erweiterung des zuerst gewonnenen Bildes, das sich — wie man sieht — auch über Jodid hinaus bewährt. Die Konstanz des Verhältnisses Gesamtanion/Jodid wird im übrigen nicht beim Warmblüter vorhanden sein, der Cl' so streng rückresorbiert. Am geeignetsten wären für diese Versuche Tiere (besonders Kaninchen) im hypochlorämischen Zustand.

Dieser Versuch einer rein physikochemischen Theorie, die über die etwa gleiche Wirkung bei so verschiedenen Konzentrationen hinweghelfen soll und kann, entspricht etwa der Theorie von Warburg über die Blausäurewirkung im Gegensatz zu der Wirkung der Narkotica an seinem Kohlemodell. Sie vermag zwar aus Gründen der Wahrscheinlichkeit die merkwürdige Konstanz des betrachteten Quotienten dem Verständnis näherzubringen, erscheint aber doch nicht sofort ohne weiteres befriedigend, wenn wir die weiteren Einzelheiten der Versuchsresultate ins Auge fassen.

Zur Illustration geben wir Abb. 4 wieder. Die Grundlage zu diesem Bilde wurde so gewonnen, daß von den Versuchen mit den drei verschieden

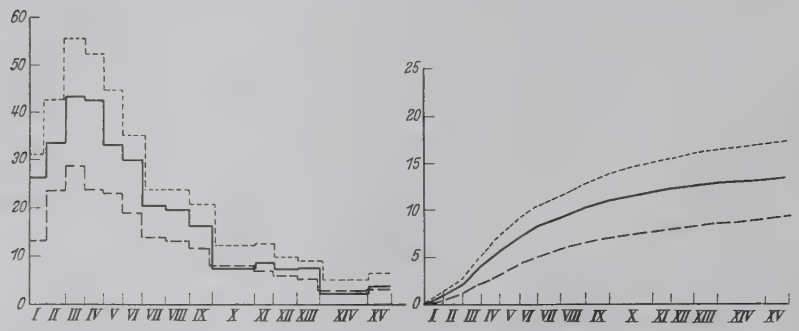


Abb. 4.
Durchschnitte aus den drei Versuchen mit verschiedener Konzentration; links die Stundenwerte, rechts die Summenkurven.
Abszisse: Zeit in Perioden. Ordinate: links $^1/_{100}$ mMol/kg/Std.; rechts mMol/kg.
— — — Jodid, ——— Na, ------- Gesamthalogen

konzentrierten Lösungen die Durchschnitte genommen wurden. Dadurch wurden die durch verschiedene Zufälle doch noch vorhandenen Schwankungen vermieden und ein schöner Ausgleich erhalten. Wir beschäftigen uns vorerst nur mit der rechts gegebenen Summenkurve. Hier ist ersichtlich, daß die Ausscheidung von Gesamthalogen die des Jodids weit übertrifft, und zwischen beiden liegt Na. Die Gleichmäßigkeit der Kurve und die Gesetzmäßigkeit ihrer Bildung soll uns durch die Tabelle 1 ergänzt werden.

Tabelle 1.

Periode	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV
$\frac{Cl' + J'}{J}$	2,5	2,08	2,02	2,02	2,00	1,97	1,94	1,94	1,93	1,83	1,89	1,88	1,87	1,87	1,87
$\frac{Cl' + J'}{Na}$	1,19	1,24	1,26	1,25	1,26	1,25	1,24	1,24	1,24	1,26	1,26	1,28	1,27	1,29	1,29
$\frac{Na}{J}$	2,1	1,67	1,61	1,61	1,58	1,58	1,57	1,57	1,55	1,50	1,49	1,47	1,47	1,44	1,44

Die Zahlen sind die Quotienten der Summenkurven. Es zeigt sich erstens eine erstaunliche Konstanz der Werte, wenn wir von der ersten Periode mit ihren unübersehbaren Störungen absehen. An den Quotienten, bei denen Jodid allein beteiligt ist, sehen wir einen Gang, der aber nur den kleinen Bereich von etwa 10% einnimmt. Eine Abhängigkeit von der Konzentration ist hier wohl die Ursache und nach unserer obigen Vorstellung zu erwarten. Bei $\frac{\text{Halogen}}{\text{Na}}$ liegt die extreme Schwankung um 4% des Wertes und dazu noch mit verschiedenen Wellen oder Oszillationen. Nach physiologischen Verhältnissen kann man hier tatsächlich von einer absoluten Konstanz sprechen.

Uns interessiert zuerst der Wert Na/J, der mit 1,44 bis 1,61 aufzeigt, daß nicht nur die Rückresorption von Cl′, sondern auch von Na˙ gehemmt sein muß, womit unsere obige Theorie anscheinend außerordentlich suspekt wird. Oder man wird zu dem faulen Kompromiß gezwungen, eine Hilfshypothese heranzuziehen. So liegen die Verhältnisse jedoch nicht. Denn hier ergibt sich die Erklärung zwanglos daraus, daß selbstverständlich eine völlig isolierte Resorptionshemmung von Cl′ gar nicht möglich ist, weil dadurch unvorstellbare Aciditäten resultieren würden. Als Modell würden wir hier eine für Anionen undurchlässige Membran haben. Auch bei dieser wird im Donnan-Gleichgewicht eine Dämpfung der freien Diffusibilität eines Ions vorhanden sein. Das thermodynamische oder statistische Gleichgewicht gibt die Grenze. Aber auch darüber hinaus werden besondere Grenzen auftauchen für das biologische Objekt, das hohe Aciditäten nicht dulden kann. In unserem Falle finden wir, daß die Ausscheidung des Halogens immer noch um 25% höher ist als die des Na˙, was unseren Forderungen nach obiger Theorie durchaus entspricht *. Besonders ist aber darauf zu achten, daß die Beziehung von Na zu Halogen fest ist und sich auch auf Bild 3b bei den Versuchen mit verschiedenen Konzentrationen sehr gut einfügt.

Ob die resultierende Acidität möglich ist und vorkommt, ist nicht ersichtlich, da wir keine Konzentrationen gemessen haben. Wenn aber die Acidität zu hoch ist, würde die Forderung auftreten, daß irgendein anderes Kation die Stelle des fehlenden Na˙ vertritt. Das kann aber in unseren Versuchen nicht in ausreichendem Betrage der Fall sein, da nach unserer Rechnung die Menge der ausgeschiedenen Kationen immer geringer ist als die der Anionen. Nach Eggleton und Mitarbeitern [7] sind die von uns berücksichtigten Ionen völlig ausreichend, um die wesentlichen Valenzen des Urins zu treffen. Wir werden also die Abgabe von Basen

* Durch Rechnung quantitative Vergleiche zu gewinnen, ist uns nicht möglich, da die physikochemischen Unterlagen fehlen. Die bekannten Messungen von Frumkin sind an Quecksilberoberflächen gewonnen worden. Siehe darüber: Eichler, O.: Die „Hofmeistersche Reihe" in Heffter-Heubners Handbuch.

[7] Eggleton, M. G., J. R. Pappenheimer u. F. R. Winton: J. Physiol. (Brit.) **97**, 363 (1940).

durch den Organismus des Frosches fordern. Dabei wird wohl nur das NH_4' eine wesentliche Rolle spielen. Wir werden eine vermehrte Ausscheidung von NH_4' erwarten müssen.

Hier gibt es nun Konsequenzen folgender Art: die NH_4-Bildung könnte schon in der Muskulatur stattfinden, da Jodid ein Stoffwechselgeschehen in der verlangten Richtung veranlaßt, dann ergäbe sich der Gesamteffekt als ein weitgespannter Bogen der Regulation [8], oder die Bildung erfolgt in der Niere. Dann müßte sie erstens an der Stelle der Rückresorption lokalisiert sein. Außerdem kämen wir zu einer interessanten Schlußfolgerung, dem Prinzip der konkordanten Struktur in Niere und Muskel, das wir neulich allgemein darstellten [6] und hier nicht durch die neugewonnenen Erkenntnisse erweitern wollen.

Nach dieser ganzen Darstellung wird die in der Tabelle 1 und auf Abb. 3b anfangs gezeigte Verdrängung des Cl′ aus den Geweben als eine tatsächliche Verdrängung anzusehen sein, etwa an der Innenseite der Haut usw., denn die Wirkung von Jodid — bezogen auf Konzentration — kann nicht plötzlich höher sein. Solche Annahme einer Verdrängung ist aber fast selbstverständlich, wurde an der Haut auch analytisch nachgewiesen [9], und zwar in einem Ausmaß, das die von Underhill und Shoemaker [10] gegebene Grenze übertrifft.

Wir haben uns schon früher darüber Gedanken gemacht [6], wie der bemerkenswerte Befund dieser Autoren eine plausible Erklärung finden könnte. Von Underhill und Shoemaker wurde festgestellt, daß beim Kaninchen zwar Jodid nicht am ersten Tage ausgeschieden wird, also für tägliche Dosen kumuliert. Trotzdem ging die Konzentration in den Geweben bzw. die Verdrängung von Cl′ aus dem Gewebe nicht über ein gewisses Maß hinaus. Wir haben die Möglichkeit ins Auge gefaßt, daß bei den Analysen eine Grenzkonzentration vorgelegen habe, oberhalb der die Tiere in den Versuchen starben. Hier haben wir noch eine zweite Möglichkeit in dem Verlust von Na^+, der die Aufnahme von jedem Halogen in der Haut verhindert. Wenn, wie hier, die Ausscheidung von Cl′ und J′ in gewissem gesetzmäßigen Zusammenhang steht, muß das auch in derselben Richtung wirksam sein, d. h. je mehr J′, desto mehr Cl′ wird ausgeschieden. Wenn beide Ausscheidungen konform gehen, muß sich für das Gewebe ein Grenzgleichgewicht ergeben. Seine Größe hängt von vielen besonderen Variablen ab, z. B. von der Geschwindigkeit, mit der Jodid die Grenze der aktiven Rückresorptionsorte durchwandert. Über beide hier als Ursache erörterten Möglichkeiten haben wir kein abgeschlossenes Urteil wegen Fehlens der Grundlagen.

---

[8] Eichler, O., u. F. Barfuß: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**, 245 (1940). Daselbst Überlegungen nach dem Le Chatelierschen Prinzip. — [9] Eichler, O.: Ebenda **175**, 67, 71 (1932). — [10] Shoemaker, H. A., u. F. P. Underhill: J. Pharmacol. (Amer.) **44**, 43 (1932).

Wenn wir — vor allem auf der Abb. 4 — schon am Anfang die vermehrte Ausscheidung von Halogen sehen, dazu den überschießenden Verlust von $Na^{\cdot}$, dann müssen wir daraus schließen, daß der Modus der Vergiftung, und zwar auch eine auftretende Acidose, nicht mit den Verhältnissen gleichgesetzt werden kann, wie sie Hudoffsky, Malorny und Netter[11] bei der Gabe von NaCl beobachtet haben.

Ausscheidung der Einzelionen.

Wie wir es bisher übten, geben wir die Resultate unserer Analysen auf Abb. 5 wieder, getrennt nach Ausscheidung pro Stunde und nach Summenkurve.

Die Kurve des Kaliums ist vielleicht am leichtesten verständlich, wenigstens in den ersten Stunden. Hier spielt die lokale Schädigung die vorherrschende Rolle, und zwar zunehmend mit der Konzentration. Es erfolgt ein Abfall nach der Mitte des Versuchs mit einem neuerlichen Anstieg. Dieser Verlauf zeigt, daß eine Verdrängung des $K^{\cdot}$ durch das $Na^{\cdot}$ nicht in Frage kommt. Die Größe der Ausscheidung übertrifft die Norm unserer früheren Versuche[5]. Das gilt für jede der hier untersuchten Substanzen. Bei Kalium zeigt sich auch in der Summenkurve die stärkste Ausscheidung bei den konzentriertesten Lösungen, d. h. bei denjenigen, bei denen die besonderen Methoden der Regulation eingesetzt werden müssen, besonders mit dem Endeffekt der Mobilisierung von Wasser. Wenn $K^{\cdot}$ teilweise gemeinsam mit Glykogen, Phosphat und Chlorid abgelagert wird[12], müßte man eine Beziehung zwischen diesen Substanzen feststellen können. Cl', das, wie wir gesehen haben, völlig anderen Gesetzen folgt, scheidet hier aus. Eine Abnahme des Glykogens wird vorkommen, aber erst im zweiten Teil des Versuchs.

Die Ausscheidung von Phosphat verläuft aber abweichend von der des Kaliums. Zwar wird es bei der 2 molaren Lösung auch am meisten und frühesten mobilisiert, aber die Ausscheidung der 1 molaren Lösung verläuft abweichend mit schrittweiser Zunahme, wobei die Ausgangswerte sich hier nicht von den Normalversuchen unterscheiden, im übrigen ähnlich den m/2 NaJ.

Bei $Ca^{\cdot\cdot}$ ist die Mobilisierung gerade bei der schwächsten Lösung am stärksten im genauen Gegensatz zu Kalium. Wir werden uns fragen, ob solche Mobilisierung mit der beobachteten Wirkung übereinstimmt, nach der die Herzen bei den Fröschen, die mit m/2 NaJ behandelt waren, vorwiegend in Systole stehenblieben. Die Überlegenheit der halbmolaren Lösung hält sich während des ganzen Versuchs. Bei den entsprechenden Konzentrationen von NaCl zeigte sich die Mobilisierung von $Ca^{\cdot\cdot}$ erst in der zweiten Hälfte des Versuchs, wobei aber auch im Endzustand die

[11] Hudoffsky, B., G. Malorny u. H. Netter: Pflügers Arch. **243**, 388 (1940). — [12] Fenn, W. O., u. L. F. Haege: J. biol. Chem. (Am.) **136**, 87 (1940).

höchsten Werte erreicht wurden. Ebenso folgt die Reihenfolge der K˙-Ausscheidung wie bei Chlorid der Konzentration. Die absoluten Werte insgesamt werden wir in der folgenden Publikation vergleichen.

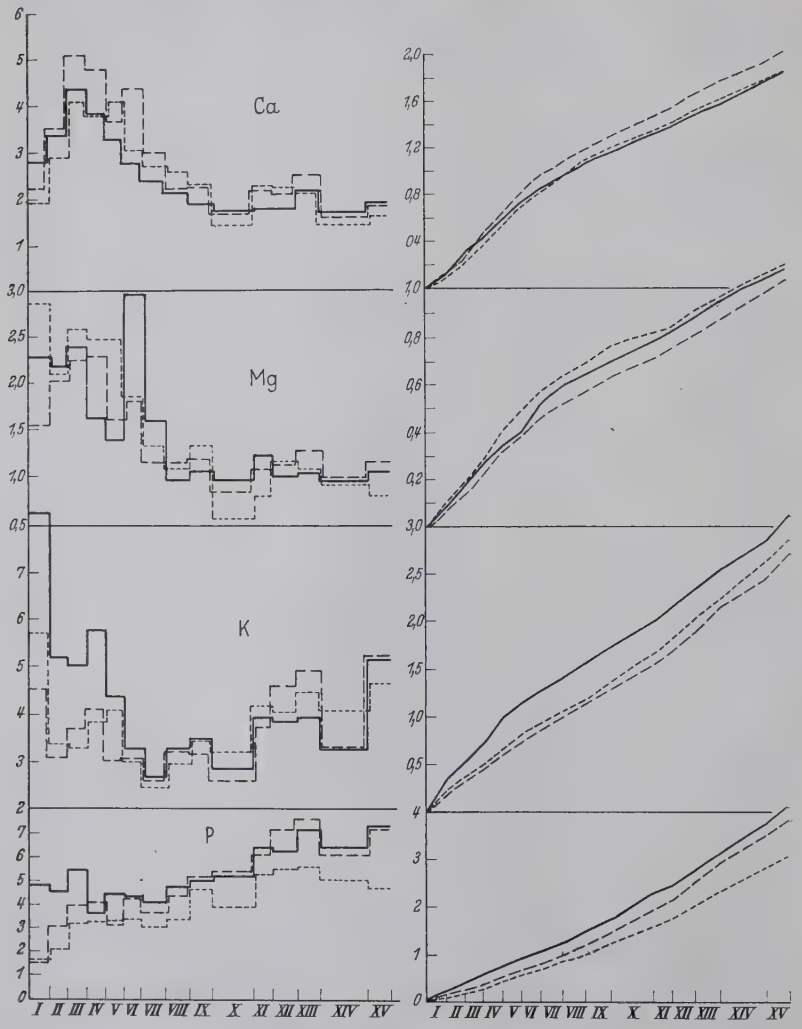


Abb. 5.
Ausscheidungskurven von Ca˙˙, Mg˙˙, K˙ und P. Links: die Stundenkurven in $^1/_{100}$mMol/kg/Std., rechts: Summenkurven in mMol/kg. Abszisse: Zeit in Perioden.
——— 2 m NaJ, ------ 1 m NaJ, — — — m/2 NaJ.

Völlig anders ist die Reihenfolge der Ausscheidung von Mg˙˙, nur daß sie auch hier deutlich stärker ist als in den Normalversuchen. Eine Be-

APR 4 1949

ziehung zu der K-Ausscheidung, die bei Erregung konform gehen kann[13], ist nicht merkbar.

Zur Erklärung, daß die Herzen bei m/2 NaJ vorwiegend in Systole stehenbleiben, gibt es drei Einzelstufen: $K^{\cdot}$ und $Mg^{\cdot\cdot}$, die diastolisch wirken, werden am wenigsten, das systolische $Ca^{\cdot\cdot}$ am meisten mobilisiert. In den Konzentrationen des Plasmas werden die Änderungen nur sehr gering ausfallen. Ob sie insgesamt ausreichen, um den beobachteten Effekt zu erklären, ist jetzt noch nicht zu beurteilen, aber die Möglichkeit ist durchaus vorhanden.

Versuch einer gegenseitigen Abschätzung.

Das Verfahren ist dasselbe wie in den beiden vorhergehenden Arbeiten. Es werden Stunde pro Stunde die Beziehungen der Ausscheidung durch Quotientenbildung zu ergründen versucht. Da der Verdacht besteht, daß Muskelgewebe eingeschmolzen wird und verlorengeht, bilden wir die Quotienten in den Proportionen der Analysen von Fenn[13]. Herkunft aus dem Muskel würde zu dem Wert 1 führen. Im übrigen folgen wir hier in etwas abgeänderter Form dem Vorgehen von Gamble, Ross und Tisdall[14], s. auch Heubner[15]. Die Resultate geben wir auf Abb. 6 wieder.

Der Quotient Ca/P zeigt anfangs eine größere Ausscheidung von P bei der starken Lösung, der wir besonders starke lokale, d. h. den M. rectus abdominus treffende Wirkungen zubilligen müssen. Es wird leicht sein, die dann folgende ansteigende Ausscheidung von $Ca^{\cdot\cdot}$ auf die durch Säurebildung gegebene Mobilisierung von $Ca^{\cdot\cdot}$ aus dem Knochen zurückzuführen. Diese Beobachtung, oder noch besser Auslegung, entspricht auch der Auffassung und den Resultaten von Gamble und Mitarbeitern[14] und setzt immer dadurch in Erstaunen, daß hier offenbar $Ca^{\cdot\cdot}$ mobilisiert wird, ohne das Phosphat zu treffen, daß also das vorhandene Carbonat isoliert entfernt werden kann. Es wäre ein Beweis für die in vitro Versuche von Rathje[16], nach denen bei der Fällung von Calciumphosphat ein Hydroxyl- aber kein Carbonatapatit zustande kommt. Das Carbonat wäre also im Knochen adsorbiert und zuerst mobilisierbar. Die Zusammensetzung müßte sich demnach ändern.

Die Größe des Quotienten von $\frac{Ca}{K} \cdot \frac{1}{0{,}06}$ zeigt auch zur Genüge an, daß $Ca^{\cdot\cdot}$ aus der Muskulatur nicht herstammen kann. Dagegen zeigt es die Überlegenheit der m/2 NaJ gegenüber den anderen, wenigstens am Anfang, vielleicht auch ein Hinweis auf die Ursache des systolischen Herzstillstandes, wenn auch nicht — wie erwartet — eine prinzipielle Änderung des Ca-K-Stoffwechsels zur Beobachtung kam, sondern die Abweichungen schrittweise der verabfolgten Konzentration folgten.

[13] Fenn, W. O.: Physiol. Rev. (Am.) **16**, 450 (1936). — [14] Gamble, J. L., G. S. Ross u. F. T. Tisdall: J. biol. Chem. (Am.) **57**, 633 (1923). — [15] Heubner, W.: Bethes Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie Bd. XVI, 2, S. 1511. Berlin, Springer, 1931. — [16] Rathje, W., u. F. Giesecke: Ber. dtsch. chem. Ges. **1941**, S. 342 u. 349.

Auch eine andere Beziehung zu Phosphat gibt uns hier keinen Hinweis, denn das Produkt Ca × P ist bei m/2 am geringsten, erst recht werden wir bei den Quotienten Ca/P, zu denen wir jetzt zurückkehren, keinen Aufschluß in dieser Richtung erhalten. Eine Ausnahme macht die stark konzentrierte Lösung, bei der sofort der Wert klein ist und kaum die Einheit erreicht. Im späteren Verlauf zeigt sich bei allen Versuchen, daß Phosphat

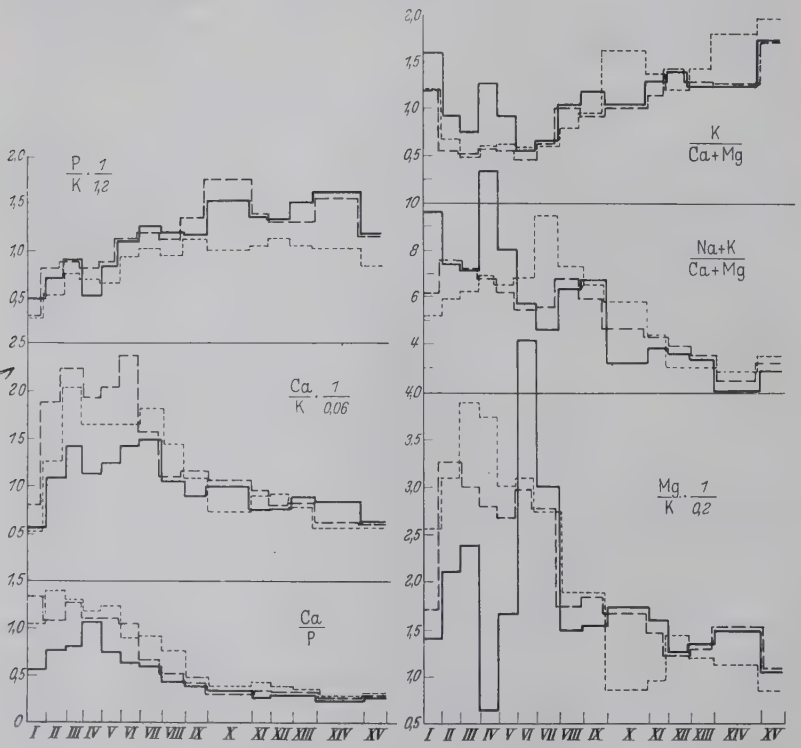


Abb. 6.
Quotienten der Werte von Abb. 5, zum Teil verglichen mit den Analysen des Muskels.
Abszisse: Zeit in Perioden. Ordinate: absolute Zahlen.
——— 2 m NaJ, ·-·-·-·-· 1 m NaJ, — — — m/2 NaJ.

auch aus anderen Quellen als aus dem Knochen stammen muß. Der Quotient $\frac{P}{K} \cdot \frac{1}{1,2}$ nähert sich 1 und verläuft bei der m/1-Lösung auf dieser Größe. Wir werden im allgemeinen aus dem Verlauf dieser Kurven schließen können, daß P wie üblich mit Verzögerung mobilisiert wird, dann aber im Muskel — vielleicht mit Glykogen zusammen (siehe [12]) — zur Ausscheidung kommt. Ein Teil muß aber noch aus anderen Quellen, etwa dem Knochen stammen.

Der Quotient $\frac{Mg}{K} \cdot \frac{1}{0,2}$ zeigt uns, daß die Abgabe von $Mg^{\cdot\cdot}$ bestimmt nicht aus dem Muskel gedeckt werden kann, obwohl es bei Erregung nach Fenn aus dem Muskel mit $K^{\cdot}$ verlorengeht, aber anscheinend auch hier in etwas geringerer Menge, als es dem Gehalt entspricht. Wir haben höchstens gegen Ende des Versuchs die Möglichkeit, daß der Prozeß dem einer Störung im Muskel gleicht und damit seine Erklärung finden kann.

Natürlich wird die Frage der Regulation im Sinne des Quotienten von Loeb eine Rolle spielen. Wir verweisen nur kurz auf die Kurven. $\frac{Na + K}{Ca + Mg}$ wird anfangs dirigiert durch die exzessive Ausscheidung von $Na^{\cdot}$ mit Abfall zum Ende. Einen Schluß über den besonderen Verlauf der einzelnen Versuche können wir nicht ziehen. Gegenüber dem Normalversuch ist aber zu bemerken, daß die absolute Größe der Werte zuletzt unter die Normalwerte sinkt, ähnlich wie bei der langdauernden Belichtung (siehe Arbeit [5], Kurve 2). Die Frösche werden auch nach langdauernder Jodidvergiftung schlaff.

Bei Elidierung des störenden Na und ausschließlicher Betrachtung von $\frac{K}{Ca + Mg}$ gibt es keine schon heute verständlichen Unterschiede. Der Verlauf zeigt uns eine Senkung des Quotienten und damit den Versuch einer Regulation gerade während der Entwicklung der Erkrankungssymptome. Der Verlauf gegen Ende des Versuchs zeigt keine Analogie zu den Quotienten $\frac{Na + K}{Ca + Mg}$, nach denen aber der Schluß auf eine geringere Tendenz zur Erregung gezogen wurde. Hier liegen besonders in der Kaliumabgabe Vorgänge vor, die mit der einfachen Funktion des Muskels nicht erklärt werden können.

Endzustand.

Wie beim NaCl legen wir uns die Frage vor, ob die während des Versuchs verlorengegangenen Mineralien eine Bevorzugung des einen oder anderen Ions erkennen lassen, wenn wir die Gesamtanalysen unserer Frösche aus der ersten Arbeit zugrunde legen. Wir geben in der folgenden Tabelle 2 den Prozentsatz des Verlustes wieder, wobei hier auch $Na^{\cdot}$ verlorengegangen ist über die Menge hinaus, die zugeführt wurde.

Wir sehen in diesen Zahlen eine völlige Verschiebung gegenüber den Versuchen mit NaCl. Während dort das $Mg^{\cdot\cdot}$ im Vordergrund des Inter-

Tabelle 2.

	Mg	P	Ca	K	Na
2 molar	4,58	0,78	0,36	5,96	6,88
1 „	4,58	0,58	0,36	5,52	7,11
$^1/_2$ „	4,32	0,73	0,40	5,24	8.15
Durchschnitt	4,50	0,70	0,38	5,58	7,38

esses stand, liegt hier das Natrium an der Spitze des Verlustes, während dort noch ein Gewinn übriggeblieben war. Als nächstes Ion folgt jetzt das $K^{\cdot}$ und dann erst das $Mg^{\cdot\cdot}$. Das Verhältnis der Ausscheidung von P und $Ca^{\cdot\cdot}$ ist nicht dasselbe geblieben. Die Ausscheidung von P hat stärker zugenommen, in diesem Falle dem $K^{\cdot}$ folgend, als Zeichen des stärkeren Verlustes aus dem Muskel. Wie der Verlust an $Na^{\cdot}$ zu verstehen ist, haben wir früher ausführlich dargelegt. Welche Wirkung dies sekundär auf die Na-Reserven des Organismus ausübt, ist nicht abzusehen. Ein näherer Vergleich mit den Verhältnissen beim NaCl kann nur bei Berücksichtigung des gesamten Verlaufs gewonnen werden. Das wird der nächsten Arbeit vorbehalten.

Zusammenfassung.

Je 60 Fröschen wird dieselbe Dosis von 10 mMol/kg NaJ, aber in 2 molarer, 1 molarer und $^1/_2$ molarer Lösung in den Lymphsack verabfolgt. Die Ausscheidung von $Na^{\cdot}$, J', Cl', $K^{\cdot}$, $Ca^{\cdot\cdot}$, $Mg^{\cdot\cdot}$ und P wird über 77 Stunden verfolgt. Dabei ergaben sich folgende Gesetzmäßigkeiten:

Jodid kommt um so rascher zur Ausscheidung, je mehr Ausscheidungsflüssigkeit zur Verfügung gestellt wird, ähnlich verhält sich $Na^{\cdot}$ und Cl'.

Gemeinsam mit dem Jodid werden in ganz bestimmter Proportion Chlorid und $Na^{\cdot}$ elidiert, jedoch so, daß $Na^{\cdot}$ zwischen Gesamthalogen und Jodid steht, wie immer die Abgabe der Gesamtbasen geringer ist als die der Anionen. Die vermehrte Ausscheidung von Cl' durch J'-Zufuhr wird verstanden als eine Hemmung der Rückresorption im Verlauf der Harnkanälchen. Der Mechanismus der Hemmung wird erläutert aus den physikochemischen, d. h. lyotropen Eigenschaften des Jodids, indem dieses durch seine Hydrophobie die Tendenz hat, die Phasengrenzen aufzusuchen und das Cl' von den Resorptionspunkten zu verdrängen. Aus dieser plausiblen Vorstellung lassen sich die anderen Vorgänge und bestimmte Konsequenzen ableiten.

Bei den Werten aller anderen untersuchten Substanzen ergibt sich eine beträchtliche Vermehrung der Ausscheidung im Verhältnis zu den Normalwerten. Dabei ist auch hier $Mg^{\cdot\cdot}$ und $Ca^{\cdot\cdot}$ zu nennen. Die Herkunft der Substanzen wird diskutiert, teils im Muskel (K, P), teils im Knochen (Ca, weniger P) und in sonstigen Organen (Mg) gefunden.

In der Schlußbilanz ergibt sich jetzt der größte Verlust — im Verhältnis zum Bestand des Organismus — beim $Na^{\cdot}$, dann folgt $K^{\cdot}$, dem sich als dritte Substanz erst das $Mg^{\cdot\cdot}$ anschließt, das beim NaCl an der Spitze stand, aber jetzt kaum vermehrt gegenüber NaCl zur Ausscheidung kommt, im Gegensatz zu den anderen Substanzen.

Das Vergiftungsbild läßt sich nicht auf denselben Mechanismus wie bei NaCl zurückführen, auch die entstehende Acidose muß einen anderen Grund haben.

Aus dem Institut für Pharmakologie und exper. Therapie der Universität Breslau.
(Direktor: Prof. Dr. O. Eichler.)

Vergleich zwischen NaCl und NaJ in Ausscheidung und Wirkung auf die Abgabe anderer anorganischer Substanzen beim Frosch.

Von

Oskar Eichler und **Lore Eichler.**

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 25. November 1941.)

Auf diesen Seiten wollen wir nun noch kurz den quantitativen Vergleich zwischen den Resultaten der beiden vorhergehenden Arbeiten niederlegen. Gegeben wurden dieselben molaren Mengen, 10 mMol/kg sowohl von NaJ als auch von NaCl. Beide Salze wurden in drei verschiedenen Konzentrationen verabfolgt. Die Abweichungen der Konzentrationen interessieren hier nicht, sie waren das Thema der früheren Darstellung. Deshalb wurden von allen bisher gefundenen Werten die Durchschnitte gebildet und nur mit diesen haben wir uns zu beschäftigen. Jeder Wert stellt also den Durchschnitt von 180 Fröschen dar, die in drei Gruppen (je 60 Frösche) in genau denselben Perioden, aber nicht zu gleichen Zeitpunkten beobachtet wurden. Die Jodid- und Chloridversuche von insgesamt je 77 Stunden Dauer folgten sich alternierend. Im ganzen haben wir also sehr wohl definierte Werte erhalten, so daß ein Vergleich sogar eine quantitative Auswertung vertragen würde. Von Bedeutung ist auch der Hinweis, daß die verabfolgte Dosis für NaJ etwa die Hälfte der mittleren tödlichen Dosis, für NaCl aber nur deren 9.—10. Teil betrug, d. h. nach der Toxizität gerechnet, sind die Dosen des Jodids 4—5mal so groß wie die des Chlorids. Das kann aber nicht die Betrachtung stören, die auf die Unterscheidung von Na einerseits, Clorid und Jodid andererseits hinausläuft.

Resultate.

Die hier gegebene Zusammenfassung scheint uns nicht allein deshalb wichtig, um selbst und unmittelbar neue Erkenntnisse zu gewinnen, sondern auch gerade darum, daß entweder für uns selbst oder für irgendeinen anderen Experimentator bei Fortführung der sich reichlich ergebenden Probleme direkt und in leichter Form ein Rückgriff auf die Analysen möglich ist. Ja wir halten es durchaus für möglich, daß der Erfahrene nur bei Anblick der Diagramme auf Beziehungen aufmerksam wird, die uns entgangen sein mögen. Gewiß sind die von uns gebotenen Umrech-

nungen nicht völlig erschöpfend und es könnte dann die direkte Zahlenangabe wesentlicher sein. Ein davon erwartbarer Vorteil, der sich aus den Angaben von Tabellen mit tausenden von Daten ergäbe, scheint gegenüber der direkten Anschauung nicht erheblich.

Der Verlauf der Vergiftung, der hier gewissermaßen losgelöst von der Konzentration dargeboten wird, findet sich auf den Abb. 1—4.

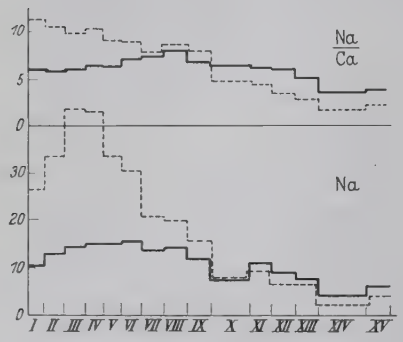


Abb. 1.
Ausscheidung von Na in $^1/_{100}$ mMol/kg/Std.
----- Jodid } Durchschnitte von
——— Chlorid } je 3 Versuchen.
Obere Kurve: Quotient Na/Ca.

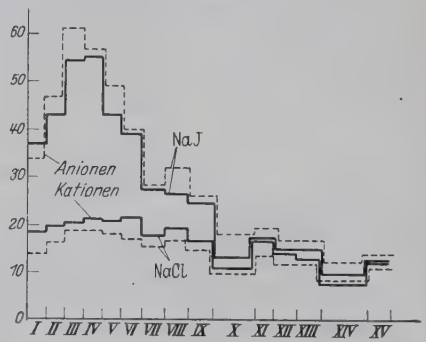


Abb. 2.
Ausscheidung der gesamten Anionen (------) und Kationen (———).
Die oberen beiden Kurven die Versuche mit NaJ, unten mit NaCl.
Ordinate: $^1/_{100}$ mMol/kg/Std. Abszisse: Zeit in Perioden.

Den imponierendsten Unterschied sehen wir bei der Abgabe des $Na^{\cdot}$, das doch in allen Versuchen in gleicher Menge verabfolgt wurde. Der außerordentlich starken Ausscheidung des $Na^{\cdot}$ beim Jodid in den ersten 24 Stunden folgt eine Erschöpfung, so daß die Ausscheidung beim NaCl sogar unterschritten wird. Diese Unterschreitung ergibt sich dadurch, daß die Ausscheidung des Na. schon nach der achten Periode die Menge der Zufuhr überschreitet, daß aber die Ausscheidung beim Chlorid am Ende des Versuchs noch nicht abgeschlossen ist.

Wenn man einen Vergleich mit der Ausscheidung des Calciums auf Abb. 3 zieht, dann erscheint die Analogie außerordentlich, ohne daß wir mit unseren heutigen Kenntnissen angeben könnten, warum solch eine Analogie möglich wäre. Denn wir müssen die Herkunft des $Ca^{\cdot\cdot}$ in erster Linie aus dem Skelet, die des $Na^{\cdot}$ aus den extrazellulären Räumen herleiten. Die Mobilisierung des $Ca^{\cdot\cdot}$ aus dem Skelet wird durch eine Acidose vermittelt. Wir haben aber festzustellen, daß die Ursache der Acidose auf durchaus anderer Grundlage beruhen muß, beim NaCl wird die von Netter und Mitarbeitern gefundene spezielle Aufnahme in der Muskelfaser eine Rolle spielen, nicht aber bei NaJ. Auf Abb. 1 oben haben wir, um diesem Verhalten nachzugeben und ein über den einfachen Aspekt hinausgehendes zahlenmäßiges Bild zu erhalten, die Quotienten Na/Ca gebildet und finden

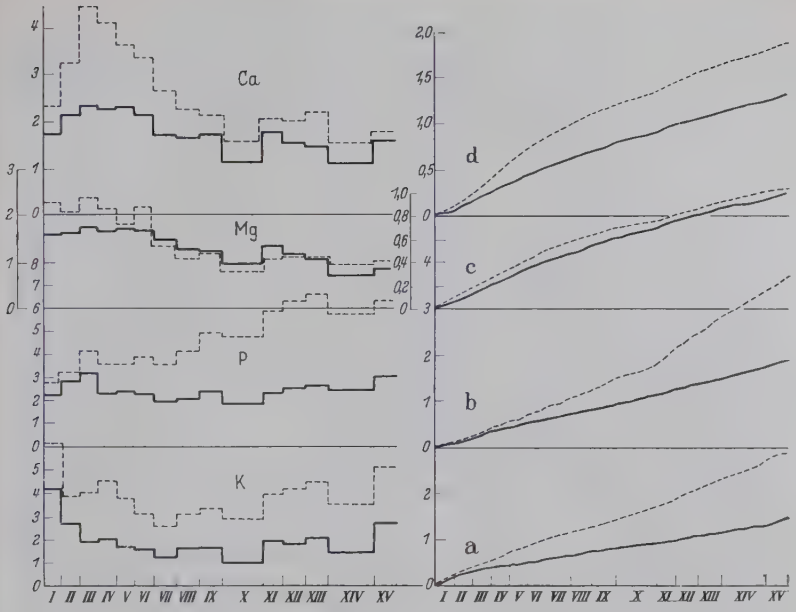


Abb. 3.
Ausscheidung von Ca$^{\cdot\cdot}$, Mg$^{\cdot\cdot}$, P und K$^{\cdot}$.
------- Jodid } Durchschnitte von je 3 Versuchen.
——— Chlorid }
Links: Ordinate $^1/_{100}$ mMol/kg/Std. Rechts: Ordinate mMol als Summenkurve.
Abszisse: Zeit in Perioden.

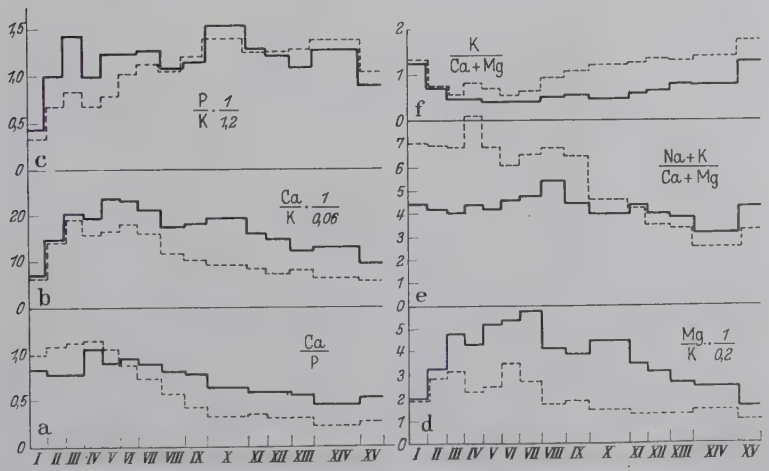


Abb. 4.
Quotienten der ausgeschiedenen anorganischen Stoffe, teilweise angeglichen den Konzentrationen im Muskel.
------ Jodid } als Durchschnitt von je 3 Versuchen.
——— Chlorid }
Ordinate: absolute Zahlen. Abszisse: Zeit in Perioden.

dabei erstens, daß dieser Quotient beim NaCl zwar mit einem bestimmten Gang, aber bis auf die letzte Zeit hin einer nicht zu großen Schwankung unterworfen ist. Beim Jodid dagegen ist nur in wenigen Perioden am Anfang eine gewisse Gleichförmigkeit vorhanden mit folgendem systematischen Abfall bis zum Ende des Versuchs. Dieser ganze Verlauf läßt die Auffassung nicht zu, daß $Ca^{\cdot\cdot}$ eventuell ausschließlich als Base zur Neutralisierung von Säure herangezogen wird.

Das zeigt sich deutlich auf Abb. 2, auf der die Summen der basischen und sauren Äquivalente pro Stunde dargestellt werden. Denn hier sehen wir ebenso den Unterschied zwischen beiden Salzen. Die Form dieser Kurven folgt der $Na^{\cdot}$-Ausscheidung. Was hier vor allem gezeigt werden kann, ist die Differenz zwischen Anionen und Kationen. Zwar verlaufen diese beiden Kurven etwa parallel, aber beim Jodid werden mehr Anionen, beim Chlorid mehr Kationen elidiert, und zwar hält sich dieser Unterschied bis zu der letzten Stunde des Versuchs. Wenn in dieser Hinsicht die Ausscheidung des Calciums beurteilt werden soll, werden wir die Funktion des Calciums als einfache Base nicht erschöpfen können.

Wenn wir bei dieser Betrachtung die Ausscheidung von Chlorid bzw. Jodid + Chlorid völlig beiseitelassen, so sind wir dazu imstande, weil bei NaCl das Chlorid in fast derselben Äquivalenz zur Ausscheidung gelangt, während beim Jodid zu $Na^{\cdot}$ sehr konstante Proportionen bestehen, wie wir in der vorhergehenden Arbeit darstellten. Der Quotient Na/Ca verläuft nun gerade anders, als wir es nach dem Versuch zur Neutralisation des Anionenüberschusses erwarten dürfen. Dabei darf man nicht aus dem Auge verlieren, daß bei NaCl die Acidose im Blute, bei NaJ aber im Urin bekämpft werden muß. Dafür postulierten wir in der vorhergehenden Arbeit die Ausscheidung von Ammonium, dessen Abgabe dann in den Harnkanälchen, also den Stellen der Rückresorption zu lokalisieren sein würde *. Die von uns vorübergehend vermutete und zur Diskussion gebrachte weitgespannte Regulation nach dem Prinzip Le Chateliers wäre damit nicht zutreffend.

Bei den weiteren von uns untersuchten Substanzen zeigt sich überall nach Einwirkung von Jodid die viel höhere Abgabe gegenüber Cl' mit Ausnahme von Magnesium. Magnesium wird, wie auf der Summenkurve ersichtlich, im ganzen in Mengen ausgeschieden, die sich bei beiden Versuchen um weniger als 10% unterscheiden. Dieses Resultat wäre zu erwarten, wenn seine Mobilisierung dem Kation und nicht dem Anion zuzuschreiben wäre. Damit hätte unsere in der vorletzten Arbeit dargelegte Auffassung über die Abgabe des $Mg^{\cdot\cdot}$ durch primäre Verdrängung an den Strukturen der Nervenendplatte und sekundäre regulative Mobilisierung aus anderen Organen eine Stütze erlangt. Aber selbst bei Grundlegung dieser Verhältnisse gibt es doch noch prinzipielle Verschiedenheiten im

* Das gilt vielleicht auch für alle Acidosen.

Verlauf der Abgabe, die nicht übergangen werden dürfen. $Mg^{\cdot\cdot}$ kommt in den ersten Perioden des Versuchs bei NaJ vermehrt in den Harn. Der Überschuß, der in dieser Zeit gelegt wird, wird während des ganzen Versuchs nicht ausgeglichen, obwohl in den mittleren Perioden eine deutliche Einsparung erfolgt. Daraus ergeben sich folgende Fragen:

Ist der anfängliche Überschuß auf die vermehrte und raschere Diurese zurückzuführen? Dafür spricht die vermehrte Ausscheidung nach Gabe der dünneren NaCl-Lösung. Diese Differenz ließ sich bei m/2 NaJ gegenüber den stärkeren Konzentrationen aber nicht wiederholen, wobei allerdings die allgemeine Diurese bei den Jodidlösungen schon stärker war.

Wenn die Diurese nicht verantwortlich zu machen ist, dann kommt noch als Erklärung die lokale Schädigung in Frage. Aber diese müßte sich in erster Linie in der K-Abgabe zeigen. Eine solche vermehrte K-Abgabe ist auch vorhanden, wie Abb. 3a dartut, aber bei Vergleich mit Abb. 4d, auf dem der Quotient $Mg/K \cdot 0.2$ errechnet ist, wird der Verlauf in vielerlei Hinsicht genau einer solchen Auffassung entgegengesetzt gefunden. Gerade bei der maximalen Schädigung ist der Quotient niedrig — außerdem bei Jodid niedriger als bei NaCl — und steigt erst im Verlauf der ersten Perioden an. Die Inkongruenz der Bewegungen von $K^{\cdot}$ und $Mg^{\cdot\cdot}$ spricht gegen diese Auffassung.

Bliebe noch als letzte — schon heute bekannte — Möglichkeit die Entwicklung der Acidose heranzuziehen. Diese Acidose wurde schon früher (vorletzte Arbeit) von uns teilweise als Mittel zur Mobilisierung von $Mg^{\cdot\cdot}$ zu regulativen Zwecken aus den Weichteilen angesprochen. Diese wird sich ganz ohne Zweifel beim Jodid rascher und früher entwickeln als beim NaCl, ganz abgesehen von dem verschiedenen Mechanismus, den wir nach Netter wenigstens in den ersten Stunden des Versuchs annehmen müssen. Als weiteres Symptom dieser Acidose können wir die Mobilisierung von $Ca^{\cdot\cdot}$ (Abb. 3d) anführen. In diesem zeigt sich die Überlegenheit des Jodidversuchs. Diese Überlegenheit ist aber viel stärker als der geringfügigen Mehrausscheidung von $Mg^{\cdot\cdot}$ auf Abb. 3c entspricht.

Also wird die Hauptmasse der Wirkung dem $Na^{\cdot}$ zuzusprechen sein, der sich eine Wirkung der Acidose überlagert. Das zeigt sich in der zweiten Hälfte des Versuchs, in der die Ca-Ausscheidung von J' oberhalb Cl' verläuft, nicht aber ist dasselbe bei $Mg^{\cdot\cdot}$ sichtbar. Dabei könnte natürlich die Erschöpfung etwa vorhandener und direkt disponibler Mg-Reserven eine Rolle spielen.

Wenn wir die Mobilisierung von $Ca^{\cdot\cdot}$ als Zeichen einer Acidose betrachten, wird natürlich als Ursprung der Knochen in Betracht zu ziehen sein und damit eng zusammenhängend die Ausscheidung von P. Auf Abb. 3b sieht man den entsprechend $Ca^{\cdot\cdot}$ stufenweisen Anstieg des P. Beim Ca/P (Abb. 4a) entspricht nur bei Jodid der Wert in den ersten Stunden dem erwarteten 1, und zwar solange, wie der hohe Anstieg des $Ca^{\cdot\cdot}$

deutlich ist. Beim NaCl liegt der Quotient nur später kurze Zeit auf dieser Höhe. Man wird nun den Satz aussprechen wollen, daß der Quotient um so höher ist, je mehr und anhaltender die Acidose in den inneren Bau des Knochens eindringt, da anfangs nur $CaCO_3$ des Knochens zum Einsatz kommt, wie es beim NaJ (Abb. 4a) der Fall ist. Wenn der Quotient trotzdem niedriger wird, werden andere Quellen für P eingesetzt, und das ist schon in den ersten drei Perioden sichtbar.

Die völlige Verschiedenheit der P-Ausscheidung zeigt sich besonders bei NaJ, während bei NaCl derselbe Effekt, d. h. Anstieg im Verlauf des Versuchs zunehmend, mit anscheinendem Maximum im Verlauf des dritten Versuchstages nur angedeutet ist. Man wird hier nochnals auf andere Weise eine Beziehung zu der Ca-Ausscheidung heranziehen müssen. Denn es gilt im allgemeinen, daß Ca × P im Plasma, wobei nur anorganisches P berücksichtigt wird, sich etwa konstant verhält. Wenn also $Ca^{\cdot\cdot}$ steigt, wird P im Blute sinken oder in kolloidale Form übergeführt werden und so der Ausscheidung entgehen und umgekehrt. Diese Grenze ist hier nicht zu finden. Wir finden bei beiden Salzen gleichmäßigen Anstieg in den ersten drei Perioden, bei NaCl ein etwa konstantes P bei sehr wechselndem $Ca^{\cdot\cdot}$, und auch bei Jodid findet sich eine Konstanz des Produktes nur bei oberflächlicher Betrachtung. Sinken des Ca und Anstieg des P. Denn der hauptsächlichste Anstieg des P erfolgt gerade zu der Zeit, während der des Ca etwa konstant bleibt. Ein solches Fehlen gegenseitiger Dämpfung ist auch gar nicht verwunderlich, da wir hier keine Konzentrationen, sondern Ausscheidung pro Stunde vor uns haben. Der durch die Menge des Urins gegebene Spielraum ist also größer als die anfallenden Ca- und P-Mengen.

Das P wird seinen langsamen Anstieg, besonders beim NaJ-Versuch, vor allen Dingen Entwicklungen in der Muskulatur zu verdanken haben, und an dieser ist der Angriffspunkt des Jodids — aber auch des Chlorids in geringerem Maße — zu suchen.

Veränderungen in der Muskulatur werden wir in ähnlicher Weise zu erwarten haben, wie sie bei der Reizung auftreten. Es gibt hier eine Analogie zur spezifischen Sinnesenergie. Genau so wie das Sinnesorgan in seiner speziellen Weise reagiert, so reagiert der Stoffwechsel in einer großen Einförmigkeit eng verbunden mit der Funktion. Und so wird es ganz besonders mit dem so hochspezialisierten Muskel zu erwarten sein. Wir werden folgende Vorgänge erwarten müssen: Abgabe von $K^{\cdot}$ und $Mg^{\cdot\cdot}$, später auch von Phosphat (dazu $NH_4^{\cdot}$, Milchsäure usw.). Eine Abgabe von $Ca^{\cdot\cdot}$ kommt nach Fenn nicht in Frage, ist aber anscheinend nach Coombs und Mitarbeitern (Literatur siehe vorletzte Arbeit) bei Tetanie, d. h. langandauernder und vielleicht übermäßiger Beanspruchung, auch vorhanden und führt dann zu Kontrakturen. Bei einfacher Erregung wie nach Belichtung war dergleichen kaum vorhanden (entsprechend Fenn, siehe erste Arbeit).

Bei Jodid haben wir nun als Vergiftungssymptom anfangs eine Übererregbarkeit strychninähnlicher Form. Diese geht über in eine Starre, kann aber auch in Erschlaffung ausgehen, wobei die Übererregbarkeit noch vorhanden ist. Diese Erschlaffung zeigte sich in der Hofmeisterschen Reihe beim Frosch um so ausgesprochener, je stärker konzentrierte Lösungen angewandt werden mußten, um in den toxischen Bereich zu kommen, d. h. sie war bei Rhodanid kaum oder gar nicht vorhanden *. Diese Erkrankung entwickelt sich etwa in der dritten Periode und bedarf bei großen Dosen sehr langer Zeit zum Abklingen.

Was sehen wir nun bei unseren Resultaten? Zuerst ist die lokale Schädigung der Muskulatur zu berücksichtigen, die sich dadurch ergibt, daß die höchstkonzentrierte Lösung nach Gabe in den Bauchlymphsack an die Bauchmuskeln direkt herangebracht wird. Daneben spielt aber noch die durch die Schädigung gegebene allgemeine Erregung hinein, die sich z. B. durch Schaumbildung kundtut. Der unmittelbarste Effekt ist in der vermehrten Ausscheidung von $K^{\cdot}$ zu sehen, und zwar früher steigend mit der Konzentration, hier bei Vergleich beim Jodid viel stärker als bei Chlorid (Abb. 3a). Diese anfängliche Steigerung sollte beim $Mg^{\cdot\cdot}$ auch zu finden sein. Sie zeigt sich auch bei beiden Lösungen darin, daß die Mg-Ausscheidung schon von Anfang an vielfach höher ist als in dem Normalversuch. Dagegen steigt aber $Mg^{\cdot\cdot}$ weiter an, als Zeichen des Übergangs in einen sekundären Effekt, während die Ausscheidung von $K^{\cdot}$ abnimmt, und zwar beim NaCl bis auf Normalwerte, während bei Jodid immer die Werte hoch bleiben. Bei P wurde in den ersten Schädigungsperioden ein Effekt erzielt, der die Normalwerte nicht wesentlich übertrifft, wenn man die Analysen der vier Stundenperioden aus der ersten Arbeit Abb. 1 zum Vergleich heranzieht. Dann erfolgt ein verzögerter Anstieg, wie teilweise auch in dem Normalversuch. Aber während bei NaCl die Norm etwa wieder erreicht wird, bleibt die Ausscheidung bei Jodid hoch und steigert sich immer mehr, bei $K^{\cdot}$ nach einem vorübergehenden Abfall. Die Kurven $K^{\cdot}$ und P gehen also nicht ganz konform auch in der letzten Zeit, wo gerade der Muskel sein P (nach Ca/P) hergeben muß. Für diesen Vorgang verwandten wir früher, aus der Physik entlehnt, den Ausdruck Hysteresis.

In dem Quotienten P/K (Abb. 4c) sehen wir die vorübergehende Inkongruenz darin, daß der dargestellte Quotient vorübergehend die Einheit beträchtlich überschreitet. Also anfangs wird P, später $K^{\cdot}$ verzögert ausgeschieden. Jedoch ist zu erinnern, daß der Faktor 1/1,2 nur die leichtbeweglichen Phosphatverbindungen, deren Funktion in der Muskelkontraktion bekannt ist, nicht aber die Phospholipoide berücksichtigt. Diese Beziehungen zu der Funktion des Muskels sind uns insgesamt verschlossen.

* Beim Warmblüter ist Muskelschwäche gerade bei Rhodanid ausgesprochener, aber nur bei langdauerndem Verlauf.

Nur daß eine Mobilisierung von Wasser und Glykogen in dieser Zeit verläuft können wir sagen, womit eine Beziehung zu den Befunden von Fenn vorhanden wäre, aber teilweise, wie gesagt, nicht völlig kongruent.

Der Quotient P/K schwankt übrigens bei beiden Versuchen in derselben Art und Größenordnung. In den letzten Stunden des Versuchs zeigt sich bei Na J der Quotient Mg/K nicht wesentlich von dem Konzentrationsverhältnis im Muskel verschieden, so daß also in dieser Zeit nicht nur K˙ und P, sondern auch das bei der Muskelbewegung freiwerdende Mg˙˙ verlorenginge. Es ist aber die Frage, ob diese Auffassung den tatsächlichen Zusammenhang der Mg-Abgabe richtig wiedergibt. Wir haben früher die Ursache der Mg-Abgabe in der Zufuhr von Na˙ gesehen und nicht in dem auf Muskelfaser wirkenden J′. Die Verschiedenheit der Kurven Abb. 4d ist nur in der Ausscheidung von K˙ zu sehen. Im allgemeinen ist die Mg-Abgabe vielfach höher, als es der Abgabe von K˙ aus dem Muskel und einer damit verbundenen Auflösung und Reduktion dieses Gewebes entspricht.

Den beiden Erdalkalien muß man hier noch eine besondere Funktion zuschreiben, und zwar in Richtung einer Abdämpfung des erregenden Einflusses der Salze. Auch in der ersten Arbeit dieses Zyklus zeigte sich nach langdauernder Erregung durch Belichtung schließlich ein Abfall des K˙ und Anstieg von Ca˙˙ und Mg˙˙. Dieser Effekt wird in zwei Partien zu teilen sein, und zwar Wirkung auf die Muskelfaser selbst und auf die Nervenendorgane. Bei der Hofmeisterschen Reihe gibt es ein sehr wesentliches Ordnungsprinzip, das wir in nächster Zeit ausführlich in allen Lebenserscheinungen nachweisen werden. Die stark quellende Seite (ClO_4', SCN′, J′) wirkt analog dem K˙ und wird durch Ca˙˙ antagonistisch beeinflußt, während die andere Seite genau entgegengesetzte Effekte hervorruft, wobei allerdings chemische Funktionen (PO_4 und F′ und Ca-Fällung) oder physikochemische (Valenz) und Komplexbildung (Fluorid, organische Säure) störend eingreifen. Damit ist also die Ca-Ausschwemmung als ein regulativer Vorgang zu betrachten, der direkt an der Muskelfaser ansetzt, aber auch im Zentralnervensystem eine erhöhte Erregbarkeit dämpfen kann *. Demgegenüber werden wir Mg˙˙ vor allem die Beeinflussung der Nervenendplatte zuschreiben, wodurch auch ein antitetanischer Effekt erzielt wird, damit auch die die Starre hemmend beeinflussende Wirkung von Ca˙˙ unterstützt wird. Denn durch lange Zuckungen wird Ca˙˙ auch aus dem Muskel abgegeben und so die Starrebildung unterstützt. Bei Tetanie ist das Mg˙˙ im Blute auch erhöht, der Versuch einer Regulation. Der Quotient der Tetanie $\frac{Na + K}{Ca + Mg}$ wird allen diesen Vorstellungen gerecht durch folgende einfache erklärende Formeln.

---

* Fußnote nächste Seite.

$Na^{\cdot}$ greift an der Nervenendplatte an. Hiergegen wirkt $Mg^{\cdot\cdot}$ antagonistisch und vielleicht in geringerem Maße Ca*. $K^{\cdot}$ und J' greifen an der Faser an, hiergegen wirkt $Ca^{\cdot\cdot}$ antagonistisch. Steigerung bedeutet Zustand der Tetanie, Senkung Tendenz zur Regulation. Auf Abb. 4, Kurve e ist die Steigerung in den ersten Zeiten zu sehen, besonders bei Jodid, während bei NaCl die Steigerung erst später erfolgt, wobei die absolute Größe sogar gegen die Norm gesenkt ist. Dieser Quotient ist nun durch die Notwendigkeit der $Na^{\cdot}$-Ausscheidung überschattet und trifft nicht ganz die Konzentrationen im Blutplasma. Besser sehen wir bei $\frac{K}{Ca + Mg}$ den Verlauf der Regulation, und zwar gerade in der Zeit des Beginns der Erkrankung. Es mag sein, daß die Erkrankung selbst in ihrem Höhepunkt nach 24—48 Stunden bei höheren Dosen schon ein Zeichen des Versagens dieser Regulationen bedeutet.

Nun ergibt sich hier eine Schwierigkeit hinsichtlich des Ursprungs der Regulationen, gerade am Muskel, der ein besonders geeignetes Objekt darstellt. Jodid vermag in die Muskelfaser nicht einzudringen, muß also seine ganzen Wirkungen von der Zellgrenze aus entfalten. Es ist als hydrophobes Ion dazu besonders geeignet, weil es sich an dieser Grenze anreichert. Deshalb sind diese Ionen von größerer Wirkung als SO_4'' mit hydrophiler Tendenz. Durch die Anreicherung des Ions an der Grenze kann es gewiß auch durch die Membranschichten hindurch auf das Innere der Zelle durch sein elektrisches Feld, etwa durch Störung der Struktur des Wassers und auf vielen anderen Wegen einwirken. Wir haben darüber schon gesprochen[1]. Aber diese Eigenschaft gibt uns noch gar keinen Eindruck, warum diese Ionen in dermaßen großem Ausmaß eine dem $K^{\cdot}$ ähnliche Wirkung entfalten. Am einfachsten ist natürlich zur Aushilfe zu sagen: „das ist ein biologischer Vorgang und uns also nicht zugänglich". Wir bedienen uns auch mit Vorliebe solcher Hilfen, durch die man mit einer eleganten Verbeugung den Vorhang zuzieht.

Wir wollen hier noch eine andere Eigenschaft der lyotropen Ionen heranziehen, ohne uns hinter die „Auflockerung der Membranen" zu verstecken und damit wiederum den Vorhang vorzuziehen, da wir nicht wissen, wofür und wozu aufgelockert wird. Wir wollen hier die durch die Erniedrigung der Phasengrenzkräfte, d. h. der Oberflächenspannung bedingten Veränderungen in Betracht ziehen, die mit der Hydrophobie und der Anreicherung der Ionen an der Phasengrenze verbunden sind.

Es ist bekannt, daß sich im Organismus und auch sonst das Wasser am leichtesten zwischen zwei Phasen durch Membranen bewegt. Im

---

* Ca hat auch eine Bedeutung für die Nervenendplatte, und zwar antagonistisch für Mg-Lähmung, sonst aber nicht. Siehe R. Höber in Heffter-Heubners Handbuch der exper. Pharmakologie, Bd. III, S. 1 (1927).

[1] Eichler, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **198**, 442 (1941).

Gleichgewicht wird das Wasser zwischen Muskelfaser und extrazellulären Räumen so verteilt sein, daß die Kräfte beiderseits gleich sind. Diese Kräfte sind in erster Linie die osmotischen Drucke. Aber abgesehen davon steht das Zellinnere noch unter dem Druck der Oberflächenspannung. Man wird also die osmotischen Drucke von innen, wenn auch um einen geringen Betrag, aber doch deutlich kleiner annehmen müssen als die von außen. Wenn nun die Grenzflächenspannung erniedrigt wird, muß im Innern die Kraft zu groß werden und die Zelle wird anschwellen müssen. In diesem Punkt haben wir die Identität mit dem $K^{\cdot}$. Wenn ich $K^{\cdot}$ in der umgebenden Flüssigkeit erhöhe — was am ganzen Tier wegen der raschen Ausscheidung nicht leicht ist —, wird $K^{\cdot}$ — etwa durch das Nettersche Gleichgewicht — im Innern der Zelle anwachsen müssen und wir hätten den gleichen Effekt und eine Vorstellung über die Funktionen gewonnen.

Jedoch führt uns auch diese Entwicklung nicht weit, denn nun ergeben sich die Schwierigkeiten, wenn wir diese geforderten Vorgänge mit den tatsächlichen Vorgängen vergleichen. Wir haben gesehen[1], daß die Muskelfasern bei KJ nicht schwellen, sondern schrumpfen mit Vergrößerung der extrazellulären Räume. Daß eine K-Abgabe stattfindet über die lokale Schädigung hinaus, können wir im Vergleich z. B. mit NaCl auf Abb. 3a sofort sehen. Diese K-Abgabe hält sogar bis in die Periode hinein an, wo schon wieder eine Schwellung der Zellen und eine Verkleinerung der extrazellulären Räume stattfindet. Mit dem $K^{\cdot}$-Verlust wird der osmotische Druck erniedrigt, sicherlich weit im Überschuß zu den geforderten Veränderungen. Handelt es sich bei dieser K-Abgabe schon um die überschießende Gegenregulation, oder ist dabei die primäre Wirkung beteiligt? Daneben ist mit diesen Vorgängen zwangsläufig die Bildung von Säure verknüpft. Sie wiederum vermag $Ca^{\cdot\cdot}$ und vielleicht $Mg^{\cdot\cdot}$ zu regulativen Zwecken verfügbar zu machen.

Diesen Problemen kann man nur durch weitere quantitative Analysen näherkommen. Wir sehen aber aus dieser Betrachtung wiederum — worauf Kant in seiner Kritik der Urteilskraft hinwies — wie Betrachtungen teleologischer Art, d. h. hier bei uns Begriffe wie Gegenregulationen usw. immer nur einen ephemeren Wert besitzen, weil eine wirkliche Ordnung der Natur nach Zwecken die überlegene Schau eines übermenschlichen Intellektes erfordert. Aber wir werden trotz dieser Einschränkung des Vermögens unseres Verstandes nicht ohne Nutzen vorübergehend von solchen Begriffen und Vorstellungen Gebrauch machen können. Denn daß letzten Endes der Organismus eine mit Regulationen reich ausgestattete Ganzheit darstellt, ist trivial. Ganz abgesehen von der Erfahrung sagt uns schon die einfache Überlegung, daß er ohne sie sich nie durch die geologische Geschichte hätte entwickeln können und gar nicht existenzfähig wäre.

Zusammenfassung.

Die Wirkung von NaCl und Jodid auf die Ausscheidung von $K^{\cdot}$, $Ca^{\cdot\cdot}$, $Mg^{\cdot\cdot}$, P und $Na^{\cdot}$ wird verglichen und ihre funktionelle Bedeutung abzuschätzen versucht.

Der Zufuhr von $Na^{\cdot}$ wird die Mobilisierung und Ausscheidung von $Mg^{\cdot\cdot}$ zugeschrieben, während sich die Wirkung des Jodids vor allem in erhöhter Ausscheidung von Kalium und P durch direkten Angriff am Muskel kundtut.

Einer Vermehrung der $Ca^{\cdot\cdot}$-Ausscheidung wird regulative Funktion zugeschrieben, selbst wenn sie durch Säureeinwirkung in Gang gebracht wird. Die Regulation spielt sich aber so ab, daß die Substanzen, die am Muskel angreifen, zwangsläufig zu befreiender Acidose führen, wobei der Mechanismus der Acidose von J' und Cl' durchaus verschieden sind.

$Mg^{\cdot\cdot}$ wird als Regulans an der Nervenendplatte aufgefaßt.

Die Ausscheidung von $K^{\cdot}$ zeigt nach 48 Stunden und von P fortschreitend von der 24. Stunde einen sekundären Anstieg, dessen Bedeutung nicht ersichtlich ist, aber vielleicht mit Glykogenabgabe zusammenfällt.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Heidelberg.
(Direktor: Professor Dr. Fritz Eichholtz.)

Über die Spezifität der Cholinesterase*.

Von
Willi Riechert und Else Schmid.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 24. Oktober 1941.)

Schon Dale[1] wies im Jahre 1914 darauf hin, daß die Zerstörbarkeit des Azetylcholins durch hydrolytische Fermente beschleunigt werden kann. Loewi und Navratil[2] vermuteten ein spezifisch auf das Acetylcholin gerichtetes Ferment, das in Gewebssäften und im Blute vorkommen soll. Stedmann[3] bezeichnete dieses Ferment mit Cholinesterase, da es sich wesentlich von anderen esterspaltenden Fermenten unterscheidet, denn Azetylcholin wird unter den gleichen Versuchsbedingungen nicht durch die Pankreaslipase und Leberesterase gespalten.

Sehr wichtig für die weitere Erforschung der biochemischen Eigenart der Cholinesterase war die Entdeckung von Hemmungsstoffen, die es einerseits ermöglichen, Azetylcholin in den einzelnen Organen nachzuweisen, da dieses durch die Hemmung der Cholinesterase nicht so leicht zerstört werden kann, und andererseits ermöglichen, durch diese die Cholinesterase von anderen esterspaltenden Fermenten abzugrenzen. Die bisher angenommene Spezifität der Cholinesterase begründet sich auf die spezifische Einwirkung (Hemmung) bestimmter Stoffe, oder aber darauf, daß die Cholinesterase nur auf das Azetylcholin oder auf in der chemischen Konstitution verwandte Körper des Cholins (Cholinderivate) einwirkt.

Der wichtigste Hemmungsstoff ist das Physostigmin. Loewi[4] konnte bei seinen Untersuchungen über die Physiologie und Pharmakologie des Herzvagus feststellen, daß Physostigmin die elektrische Vagusreizung sensibilisiert (1912).

Am Blutegel hat Führer[5] im Jahre 1918 den sensibilisierenden Effekt des Physostigmins auf das Azetylcholin am Blutegelpräparat an einem Vorlesungsversuch demonstriert. In einer späteren Arbeit deutet Führer[6] diese Sensibilisierung der Azetylcholinwirkung durch Physostigmin durch die Hemmung eines auf das Azetylcholin einwirkenden Fer-

* D 16.

[1] Dale, H.: J. Pharmacol. usw. **6**, 147 (1914). — [2] Loewi, O., u. E. Navratil: Pflügers Arch. **214**, 678 (1926). — [3] Stedmann, E., u. L. Easson: Biochem. J. **26**, 2056 (1932). — [4] Loewi, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **70**, 351 (1912). — [5] Führer, H.: Ebenda **82**, 81 (1918). — [6] Führer, H.: Münch. med. Wschr. **1**, 915 (1922).

mentes, da nämlich die Wirkung anderer parasympathischer Reizmittel, wie Muscarin, Cholin, Pilocarpin, nicht durch Physostigmin beeinflußt werden.

Loewi und Navratil[7] wandten das Physostigmin bei ihren Untersuchungen über die humorale Übertragbarkeit der Herz-Nervenwirkung am Froschherzen an, und konnten bei diesem sowie beim Ergotamin eine Sensibilisierung auch für den Vagusstoff eindeutig feststellen. Die gleichen Konzentrationen von Physostigmin und Ergotamin, die in vivo für den Vagusstoff und das Azetylcholin sensibilisierend wirken, hemmen in vitro die Spaltung dieser beiden Stoffe durch die Esterase des Herzextraktes. Beide Autoren erklärten daher die Sensibilisierung als Folge der ebenfalls durch diese Stoffe bedingten Hemmung der Esterasewirkung.

Nach den Arbeiten von Ammon[8] erwies sich das Physostigmin noch in der Konzentration von 0,001 mg in 2 ccm einer 0,5%igen Azetylcholinlösung als stark wirksamer Hemmungskörper. Bei $5 \cdot 10^{-6}$ mg beträgt beim Pferdeserum die Hemmung noch 50%. Ähnlich wirkt das Prostigmin (Dimethyl-carbaminsäureester des Meta-oxyphenyltrimethylammoniumäthylsulfats). Erst 0,05 mg hemmen total, während bei 0,015 mg schon eine schwache Spaltung zu beobachten ist.

Unsere Beobachtung, daß Ascorbinsäure unter bestimmten Versuchsbedingungen einen mäßigen Hemmungseinfluß auf die Cholinesterase ausübt, begründet die Forderung, weitere Redoxsysteme in dieser Hinsicht zu untersuchen. Ferner wurde in neuerer Zeit von Rentz[9] die Beobachtung gemacht, daß Methylenblau gegenüber allen anderen bisher bekannten Hemmungskörpern der Cholinesterase, außer Physostigmin, auf die Cholinesterase besonders stark hemmend wirken soll. Da das Methylenblau ein bekannter Redoxfarbstoff ist, wurden nun noch andere ähnliche Farbstoffe untersucht.

Methodik.

Die Bestimmung der Cholinesterase wurde nach der von Ammon[10] angegebenen Methode durchgeführt, wie sie in der Arbeit von Riechert und Wieland[11] beschrieben wurde. Zur Verdünnung des Menschenserums wurde in unseren Versuchen eine Krebsringerlösung[12] verwandt.

Versuchsergebnisse.

Die Versuchsergebnisse über die Beeinflussung der Azetylcholinhydrolyse durch Ascorbinsäure sind in Abb. 1 und 2 graphisch dargestellt. Das Hinzufügen von 10 γ und 50 γ Ascorbinsäure zu diesem Versuchs-

[7] Loewi, O., u. E. Navratil: l. c. — [8] Ammon, R., u. G. Voss: Pflügers Arch. **235**, 393 (1935). — [9] Rentz, E.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 148 (1940). — [10] Ammon, R.: Pflügers Arch. **233**, 486 (1933). — [11] Riechert W., u. Th. Wieland: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, 629 (1941). — [12] Krebs, A., u. K. Henseleit: Z. physiol. Chem. **210**, 33 (1932).

system ließ nur eine äußerst geringe Hemmung erkennen. Mit 50 γ Ascorbinsäure wurden in der Stunde 200 cmm CO_2, gegenüber dem Kontrollversuch (244 cmm), entwickelt. Die Hemmung wurde stärker bei Hinzufügen von 100 γ Ascorbinsäure; mit 50 γ Ascorbinsäure wurde der gleiche Effekt wie mit 100 γ erreicht. Der CO_2-Wert von 1 Stunde betrug 170 cmm.

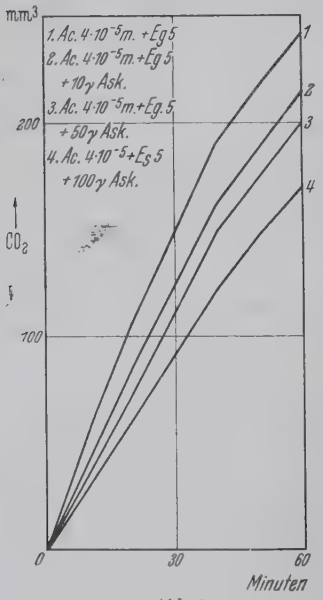


Abb. 1.
$Ac.$ = Azetylcholin $4 \cdot 10^{-5}$ molar,
$Ask.$ = Ascorbinsäure,
Eg_5 = Blutegelextrakt 1 : 5,
Es_{20} = „ 1 : 20,
E_{50} = „ 1 : 50.

Auf Grund dieser Versuchsergebnisse wurde die Cholinesterasemenge des Blutegelextraktes durch weiteres Verdünnen verringert, um durch die gleichen Mengen von Ascorbinsäure vielleicht einen stär-

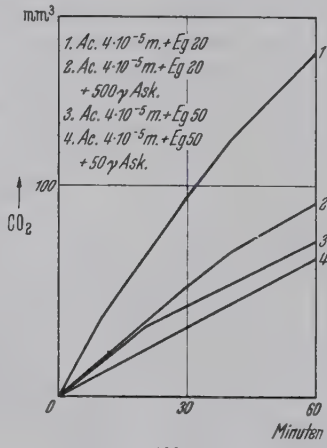


Abb. 2.
Versuchstemperatur 37,4°
V_F = 2 ccm.

keren Hemmungseffekt zu erzielen. Unter den gleichen Versuchsbedingungen wurden durch eine Blutegelextraktverdünnung 1 : 20 in der Stunde 163 cmm CO_2 entwickelt. 500 γ Ascorbinsäure reduzierten die Entwicklung von CO_2 von 163 cmm auf 65 cmm (Abb. 2). Trotz weiterer Verdünnung des Blutegelextraktes auf 1 : 50 wurde durch 50 γ Ascorbinsäure, die auch bei einer Blutegelextraktverdünnung 1 : 5 keinen merklichen Hemmungseffekt hervorriefen, keine weitere Hemmungssteigerung erzielt. Damit erweist sich die Ascorbinsäure als schwacher Cholinesterasehemmungskörper.

Als weitere Redoxsysteme wurden Cystin und Fumarsäure untersucht. Bei Blutegelextraktverdünnung 1 : 5 haben 100 γ Cystin oder Fumarsäure keinen Einfluß auf die hydrolytische Spaltung des Azetylcholins. Bei Blutegelextraktverdünnung 1 : 20 hemmten 500 γ Cystin nur äußerst

gering, während die Hemmung bei 500 γ Fumarsäure wesentlich deutlicher ist (500 γ Cystin etwa 15%, und 500 γ Fumarsäure etwa 25%). In Abb. 3 sind noch die Versuchsergebnisse mit Aneurin angegeben; selbst 1000 γ von Aneurin rufen bei Blutegelextraktverdünnung 1 : 5 keinen Effekt hervor, während bei Verringerung der Esterasemenge im Blutegelextrakt auf 1 : 20 500 γ Aneurin eine 25%ige Hemmung hervorrufen. Erwähnt sei noch, daß Cystein und Maleinsäure, in der gleichen Zusatzmenge (500 γ) wie Cystin und Fumarsäure, keine Hemmung zeigen; ebenso auch nicht andere Aminosäuren wie Asparaginsäure, Alanin, Glykokoll, Valin und Tryptophan.

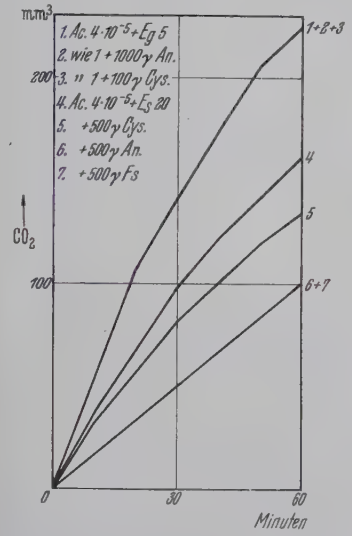


Abb. 3.
An. = Aneurin,
Cys. = Cystin,
Fs. = Fumarsäure.

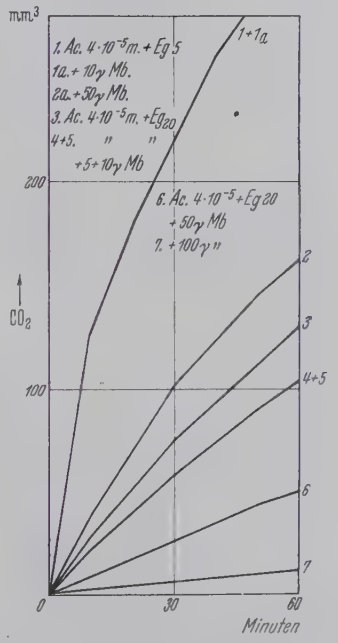


Abb. 4.
Mb. = Methylenblau.

In der folgenden Versuchsserie kamen Redoxfarbstoffe zur Untersuchung wie das Methylenblau, das Safranin, Janusgrün und Nilblau. Nach der Arbeit von Rentz, die während der Ausführung unserer Versuche erschien, mußte angenommen werden, daß mit Methylenblau ein starker Effekt zu erzielen wäre. Abb. 4 zeigt unsere Versuchsergebnisse mit diesem Farbstoff. Mit 10 γ Methylenblauzusatz war bei Blutegelextraktverdünnung 1 : 5 kein Effekt zu erzielen. Bei Zusatz von 50 γ Methylenblau betrug die Hemmung annähernd 50%. Bei Blutegelextraktverdünnung 1 : 20 rufen 10 γ Methylenblau einen geringen Effekt hervor, 50 γ hemmen 60%ig, und 100 γ annähernd 100%ig. Damit scheinen die Beobachtungen von

Rentz, daß schon 10 γ Methylenblau einen 100%igen Hemmungseffekt hervorrufen, unter diesen Versuchsbedingungen nicht zuzutreffen, da weiterhin nach eigenen Untersuchungen schon viel geringere Mengen von Physostigmin als 10 γ eine absolute Hemmung der Cholinesterase des Blutegelextraktes hervorrufen.

Unter den gleichen Versuchsbedingungen läßt sich auch mit Safranin, Nilblau und Janusgrün eine Hemmung hervorrufen. Diese ist aber nicht so ausgesprochen wie die durch Methylenblau, denn 100 γ Nilblau und 100 γ Janusgrün hemmen annähernd 50%ig, 100 γ Safranin etwa 40%ig, während ja, wie gezeigt, mit 100 γ Methylenblau eine 100%ige Hemmung hervorgerufen werden kann. Rosindulin erwies sich in all den Versuchen als wirkungslos. Da die Versuchsergebnisse von Rentz nicht vollauf

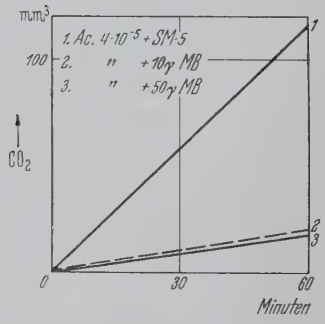


Abb. 5.
SM. = Menschenserum 1:5.

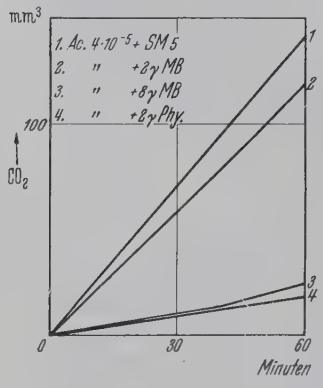


Abb. 6.
Phy. = Physostigminum sulfuricum.

bestätigt werden konnten, stellten wir ähnliche Versuche statt mit Blutegelextrakt mit Menschenserum an. Hier zeigte sich nun, in Bestätigung der Rentzschen Versuche, wie aus Abb. 5 zu ersehen ist, die für uns überraschende Tatsache, daß mit 10 γ und 50 γ Methylenblau unter den gleichen bisherigen Versuchsbedingungen eine annähernd 100%ige Hemmung hervorgerufen werden kann. In den weiteren Versuchen wurde statt der oben angegebenen Ringerlösung, zwecks Verdünnung des Serums und auch zur Herstellung der Azetylcholinlösung, Krebsringerlösung verwandt.

Außer dem Methylenblau wurden noch Safranin, Janusgrün, Nilblau und Lactoflavin mit in den Versuch einbezogen. Methylenblau zeigte den stärksten Effekt, während Lactoflavin wirkungslos war. Die anderen eben angegebenen Substanzen unterscheiden sich in ihrer Wirkung nicht wesentlich von den Versuchen mit Blutegelextrakt. Erwähnt sei noch, daß auch in den Versuchen, in denen statt mit gewöhnlicher Ringerlösung mit

Krebsringerlösung der Blutegelextrakt verdünnt wurde, keine andere Ergebnisse als bei den vorigen Versuchen erzielt werden konnten.

Rentz konnte schon mit 1 γ Methylenblau beim Menschenserum in der Verdünnung 1 : 10 eine 60%ige Hemmung der Esterase hervorrufen. Im Leerversuch entwickelten sich bei ihm in 60 Minuten 350—370 cmm CO_2, während in dem gleichen Versuch mit 10 γ Methylenblauzusatz die Hemmung 87% betrug. In ähnlichen Versuchen haben wir jedoch mit 2 γ Methylenblau keine merkliche Einwirkung auf die Azetylcholinhydrolyse erreichen können. Bemerkt sei dabei, daß in diesem Versuch (Abb. 6) sich in 60 Minuten 140 cmm entwickelten, demnach wesentlich weniger Cholinesterase als bei dem Rentzschen Versuch vorhanden war. Erst bei 10 γ Methylenblau trat eine merkliche Hemmung auf. Die Auffassung von Rentz, daß das Methylenblau als Hemmungskörper nur wenig schwächer wie das Physostigmin wirkt, d. h. daß man mit beiden Substanzen in gleicher Konzentration ungefähr denselben Hemmungseffekt erzielen kann, können wir nicht bestätigen, denn in entsprechenden Versuchen kann man sowohl bei Blutegelextrakt als auch bei Menschenserum schon mit $^1/_2$ γ Physostigminzusatz einen merklichen Hemmungseffekt hervorrufen, während Methylenblau in der gleichen Konzentration noch völlig wirkungslos ist.

Schlußbetrachtung.

Neben dem Azetylcholin werden noch viele andere Ester des Cholins durch die Cholinesterase gespalten, worauf besonders Glick [13] in seiner Untersuchung über die Spezifität der Cholinesterase aufmerksam machte. In erster Linie sind die Ester mit der Propionsäure, Buttersäure und Palmitinsäure zu erwähnen. Ebenso wird der Ester mit der Ameisensäure, das Formylcholin, erheblich gespalten. Durch Methylierung des Cholins in α- und β-Stellung (α-Methylcholin und β-Methylcholin) und Veresterung dieser Derivate mit Essigsäure nimmt die Spaltbarkeit durch die Cholinesterase erheblich ab. Die Verlängerung der Cholinkette, wodurch die Estergruppe weiter von der Stickstoffgruppe entfernt zu stehen kommt, hat einen Abfall der enzymatischen Spaltung zur Folge (Azetylhomocholin und Azetylpentahomocholin). Auch auf anorganische Ester (Ester der Salpetrigen-säure, Salpeter-, Schwefel- und Phosphorsäure) wirkt die Cholinesterase ein. Diese eben genannten Verbindungen zeigen eine nahe Verwandtschaft mit dem molekularen Aufbau des Cholins und müssen daher als reine Cholinderivate bezeichnet werden, so daß dadurch die Spezifität der Cholinesterase in bezug auf die Spaltbarkeit von Estern cholinähnlicher Körper erhalten ist.

Nun sind aber auch andere Verbindungen, wie das N-dimethyl-2-acetoxymethyl-piperidineumjodid und das N-dimethyl-2-acetoxymethyl-

[13] Glick, D.: J. biol. Chem. (Am.) **125**, 729 (1938).

pyrolidineumjodid (Glick[14]), ebenfalls durch die Cholinesterase angreifbar. Diese beiden Körper zeigen außer ihrer Eigenschaft als Ester und dem Vorhandensein eines quartären Stickstoffs keine Ähnlichkeit mehr mit dem molekularen Aufbau des Azetylcholins.

Fernerhin sind nach den Untersuchungen von Birkhäuser und Süllmann[15], Dufasit und Massart[16], sowie von Riechert und Wieland[17], chemische Körper bekanntgeworden, die als Ester eine deutliche Beschleunigung ihrer Verseifung durch die Cholinesterase aufweisen. Es handelt sich um den Essigsäureester des Aneurins, und nach den Untersuchungsergebnissen der beiden letztgenannten Autoren um den Benzoesäureester des Aneurins und zweier weiterer Substanzen, das 4-Methyl-5-acetoxyäthyl-N-methyl-thiazoliumjodid und das 4-Methyl-5-acetoxyäthyl-N-benzyl-thiazoliumchlorid, die als Derivate des Thiazolanteils des Aneurins aufzufassen sind.

Auf Grund dieser Beobachtungen scheint eine Spezifität der Cholinesterase in bezug auf ihre früher angenommene Spaltbarkeit von reinen Cholinderivaten nicht mehr zu bestehen.

Neben dem Physostigmin sind viele andere chemische Substanzen untersucht worden, ob sie einen Einfluß auf die Cholinesteraseaktivität ausüben.

Als zweites wichtiges Cholinesterasehemmungsmittel ist das Ergotamintartrat bekannt. Nach Navratil[18] hemmt auch das Ergobasin in gleichem Maße wie das Prostigmin. Ammon[19] hat weiterhin eine Menge anderer Substanzen in bezug auf ihre Hemmungseigenschaften auf die Cholinesterase untersucht. Es mußte jedoch von diesen Körpern eine wesentlich höhere Konzentration zugegeben werden, um einen Hemmungseffekt zu erzielen (Suprarenin 2.5 mg; Strychninnitrat 2 mg; Atropinsulfat 1 mg; Atoxyl 2 mg). Es gelang jedoch in diesen Versuchen nie, eine totale Hemmung zu erzielen. In der gleichen Dosierung haben nach Zinnitz und Rentz[20] auch einige Gefäß- und Herzmittel, wie Strophanthin, Hexeton, Racedrin, Suprifen, sowie auch Cardiazol und Coramin, jedoch erst in mg-Dosen (2—10 mg) einen geringen Einfluß. Nach den Untersuchungen von Sobotka und Antopol[21] hemmen auch die Natriumsalze der Gallensäuren.

Zusammenfassend über die eben besprochenen Versuche muß gesagt werden, daß keine der bisher angeführten Stoffe so intensiv auf die Cholinesterase einwirkt wie das Physostigmin; d. h. Physostigmin scheint eine spezifische Affinität zur Cholinesterase zu haben. Auch die neueren Unter-

[14] Glick, D.: Ebenda **128**, 34 P. (1939). — [15] Birkhäuser, H., u. H. Süllmann: Schweiz. med. Wschr. **69**, 648 (1939). — [16] Dufasit, R., u. L. Massart: Naturw. **27**, Heft 33. — [17] Riechert, W., u. Th. Wieland: l. c. — [18] Navratil, E.: Klin. Wschr. **1937**, I, S. 64. — [19] Ammon, R.: l. c. — [20] Zinnitz, F., u. E. Rentz: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**, 329 (1940). — [21] Sobotka, H., u. W. Antopol: Enzymologica **4**, 189 (1937).

suchungen von Rentz[22] und unsere eigenen Beobachtungen über die Einwirkung des Methylenblaus und der anderen bereits angeführten Farbstoffe beeinträchtigen nicht die Spezifität des Physostigmins in dieser Hinsicht. Obwohl das Methylenblau in verhältnismäßig geringen Zusätzen (10 γ) zum Blutserum die Cholinesteraseaktivität erheblich beeinflußt, ist es doch nicht an die Seite des Physostigmins als spezifischer Hemmungskörper der Cholinesterase zu stellen. Denn unsere vergleichenden Untersuchungen mit Methylenblau und Physostigmin konnten immer wieder zeigen, daß das letztere schon in wesentlich geringeren Dosen einen totalen Hemmungseffekt hervorruft, während das Methylenblau in der gleichen Größenordnung überhaupt keinen Einfluß aufweist. Das Methylenblau ist daher ein Hemmungskörper von gewöhnlichem Maße wie alle die andern angeführten Körper, wenn es auch schon bei geringeren Zusätzen eine Hemmungswirkung aufweist. Zwischen der Cholinesterase des Blutegels und der des Menschenserums scheint der Unterschied darin zu bestehen, daß Methylenblau beim Blutegel erst in höherer Konzentration als beim Menschenserum einwirkt. Worauf dieser Unterschied beruht, ist bis jetzt noch nicht geklärt. Safranin, Nilblau, Janusgrün stehen beim Blutegelextrakt mit dem Methylenblau ungefähr auf derselben Stufe, während sich beim Menschenserum mit 10 γ Zusatz nicht die gleichen Effekte erzielen lassen wie mit Methylenblau.

Zusammenfassung.

1. Ascorbinsäure, Cystin, Fumarsäure erweisen sich als gewöhnliche Hemmungskörper der Cholinesterase.

2. Beim Blutegelextrakt hemmen Methylenblau, Safranin, Nilblau und Janusgrün gleich stark, während beim Menschenserum Methylenblau wesentlich stärker die Aktivität der Cholinesterase hemmt.

3. Physostigmin ist der spezifischste Hemmungskörper unter den genannten von uns untersuchten Substanzen.

Das Azetylcholin wurde uns für unsere Untersuchungen freundlicherweise von der Chemischen Firma Hoffmann-La Roche, Berlin, und das Physostigmin von der Chemischen Firma Böhringer u. Sohn, Niederingelheim, überlassen.

[22] Rentz, E.: l. c.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Über die Wirkung einiger Azulene bei Entzündungen*.

Von

Charlotte Pommer.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 1. Dezember 1941.)

I. Allgemeines.

Über die entzündungswidrige Wirkung, die dem Kamillenöl zukommt, liegen u. a. folgende Ergebnisse vor:

Heubner und Grabe (1) zeigten, daß der eigentlich entzündungswidrig wirkende Teil des Kamillenöls das Azulen, ein blaugefärbter Kohlenwasserstoff ($C_{15}H_{18}$) ist. Sie benutzten als Methode die Senfölchemosis am Kaninchenauge, die auch von Jaretzki und Neuwald (2) übernommen wurde.

Kaiser und Frey (3) trennten durch Fällen mit Ferrocyanwasserstoff das Azulen in einen blaugefärbten Stoff, den sie Reinazulen nannten, und ein grüngefärbtes Öl, welches sie als Verdazulen bezeichneten. Auch dieses Verdazulen ist ein Kohlenwasserstoff ($C_{15}H_{16}$).

Heubner und Albath (4) prüften die entzündungswidrige Wirkung dieses Reinazulens und kamen erneut zu dem Ergebnis, daß es ein wesentlicher entzündungswidriger Bestandteil des Kamillenöls ist.

Albath (5) prüfte neben dem Reinazulen auch den Grünanteil. Er fand, daß beiden Ölen in gleichem Maße eine entzündungswidrige Wirkung zukommt, während das nach Abtrennung des Reinazulens und des Grünöls verbliebene Restöl des Kamillenöls keine entzündungswidrige Wirkung zeigte. Die zu dieser Prüfung verwendeten Präparate wurden aus der deutschen Kamille gewonnen.

Jaretzki und Neuwald (2) haben mitgeteilt, daß wohl das Öl der Matricaria chamomilla L., nicht aber das gelbe Öl der Matricaria discoidea L. eine entzündungswidrige Wirkung hat.

Hesse, Altner und Zeppmeisel (6) konnten die entzündungswidrige Wirkung des Azulens nicht bestätigen und auch mit anderen Kamillenpräparaten keine zureichende entzündungswidrige Wirkung auffinden.

Der Gehalt der einzelnen Kamillensorten an ätherischem Öl ist nach Untersuchungen von Peyer (7) verschieden. Demnach enthielten:

Flores chamomillae aus Schlesischen Kamillen I	0,80+0,85%	Stich ins Grüne
Flores chamomillae aus Schlesischen Kamillen II	1%	schön blau
Flores chamomillae aus Ungarischen Kamillen	0,60%	schön blau
„Südöstliche"	0,48%	nicht so blau wie deutsches Kamillenöl

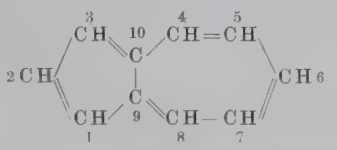
* D 11.

Die Aufklärung der chemischen Struktur der Azulene gelang Plattner und Pfau (8). Sie fanden für die Azulene ein neuartiges Ringsystem mit fünf Doppelbindungen, das in einer Verknüpfung eines Fünfringes mit einem Siebenring besteht. Dieselben (9) stellten einen intensiv blaugefärbten Stoff her, der das Grundskelet der Azulene aufweist und „Azulen" genannt wird ($C_{10}H_8$) (I). Zur Unterscheidung werde ich es in dieser Arbeit als „Grundazulen" bezeichnen.

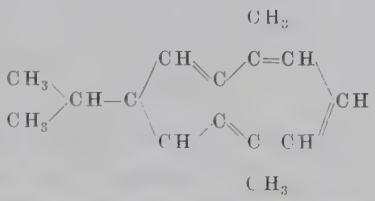
Aus einer auf Java gedeihenden Pflanze, Vetiver, wird ein ätherisches Öl mit einer Fraktion Sesquiterpenalkohol gewonnen. Durch Dehydrierung dieser Fraktion erhielten Plattner und Pfau (8) ein Azulen, das mit keinem der bisher beschriebenen identisch ist, und nannten es Vetivazulen. Es zeichnet sich durch seine rein violette Farbe aus. Vetivazulen ist: 2-Isopropyl-4, 8-dimethylazulen ($C_{15}H_{18}$) (II).

Schmelzpunkt für Vetivazulen-Pikrat: 120°;
Schmelzpunkt für Vetivazulen-Trinitrobenzolat: 151,5°.

I



II



In einer späteren Arbeit gelang es Plattner und Pfau (10), das Vetivazulen synthetisch herzustellen.

Ziel der vorliegenden Arbeit war, zu prüfen:

1. ob Azulenpräparate, die aus ungarischer Kamille hergestellt wurden, die gleichen entzündungswidrigen Wirkungen aufweisen wie die aus deutscher Kamille gewonnenen Präparate,

2. ob dem von Pfau und Plattner (10) erstmalig synthetisch hergestellten Vetivazulen,

3. ob dem einfacher gebauten Azulen ($C_{10}H_8$), der Grundsubstanz der „Azulene",

eine entzündungswidrige Wirkung zukommt.

Folgende Stoffe wurden untersucht:

1. Reinazulen aus ungarischer Kamille.

2. Grünöl aus ungarischer Kamille.

Beide Präparate wurden von der Chemisch-Pharmazeutischen A.-G. Bad Homburg in Frankfurt a. Main zur Verfügung gestellt. Die Bezeichnung „Reinazulen" besagt, daß das Produkt durch Fällung mit Ferrocyanwasserstoffsäure und darauf im Chromatogramm abgetrennt wurde.

3. Synthetisches Vetivazulen, von Herrn Prof. Wagner-Jauregg nach den Angaben von Plattner und Pfau (10) hergestellt. [Laboratoriumsbezeichnung IV A 160; vgl. dazu auch Wagner Jauregg, Arnold, Hüter und Schmidt (14)].

4. Ein von Herrn Prof. Wagner-Jauregg nach der von Plattner und Pfau (9) angegebenen Methode synthetisch hergestelltes blaugefärbtes Grundazulen von der Formel $C_{10}H_8$ (Laboratoriumsbezeichnung HH 36).

Alle diese Stoffe wurden in Oleum olivarum gelöst.

Im Handbuch der Deutschen Arzneipflanzen schreibt allerdings Alois Kosch (15), daß der Kamille eine entzündungswidrige Wirkung besonders dann zukomme, wenn kein Fett oder Öl als Vehikel verwendet wird. Um dieser Angabe Genüge zu tun, wurden auf folgende Weise Emulsionen hergestellt:

10 mg Lecithin, 200 mg Vetivazulen und 1 ccm Äther werden geschüttelt mit 200 ccm Aqu. dest., der Äther sodann abgeblasen. Ebenso wurde mit Reinazulen und Grünöl verfahren. Alle diese Emulsionen waren beständig und zeigten bei mikroskopischer Betrachtung eine feine Verteilung.

Zur Herstellung einer Emulsion aus dem Grundazulen HH 36 war notwendig, daß dieses vorher etwas erwärmt wurde. Diese Emulsion hielt sich nur über drei Wochen und entfärbte sich dann zu einer grauen Flüssigkeit.

II. Methodik der pharmakologischen Prüfung:

A. Lichterytheme an der menschlichen Haut.

In Anlehnung an die Methode von Heubner und Albath (4) wurden Erytheme auf folgende Weise erzeugt: Eine Manschette, in die drei Löcher mit einem Durchmesser von 12 mm in einem Abstand von 15 mm gestanzt waren, wurde um die Beugeseite des Unterarmes gelegt; die Verbindungslinie dieser Löcher verlief also mit der Längenachse des Unterarmes parallel. Diese nicht durch die Manschette bedeckten Stellen wurden mit einem noch gut wirksamen Analysen-Quecksilberquarzbrenner im Abstand von 20 cm 7 Minuten lang bestrahlt. Auf diese Stellen wurden Tupfer mit den zu prüfenden Substanzen gebracht, die mit Leukoplast befestigt und mit Guttapercha bedeckt wurden; das ganze wurde mit einer Mullbinde fixiert. Der Verband wurde nach jeweils 24 Stunden so oft erneuert, bis vollständige Heilung eingetreten war.

Der Ablauf der Entzündung wurde mit Hilfe des Pulfrich-Stufenphotometers in Anlehnung an die von H. J. Oettel (11) angegebene und von Heubner und Albath (4) abgeänderte Methode untersucht. Dabei wurde die Lichtreflexion von der Haut mit der Lichtreflexion von einer Barytweißplatte verglichen. Die Reflexion war bei einer Haut, die durch Entzündung gerötet oder nachfolgend pigmentiert war, herabgemindert.

Das Stufenphotometer wurde senkrecht montiert, die Reflexion durch die entzündete Haut im Bereich eines blauen Filters gemessen. Verwendet wurde das Filter L 3 der Firma Carl Zeiß, das seine maximale Durchlässigkeit bei 4400 Å und seinen Filterschwerpunkt bei 4700 Å hat.

Als Lichtquelle diente eine Niedervoltglühlampe.

In den ersten (nicht verwerteten) Versuchen fiel das Licht einerseits auf die zu untersuchende Hautfläche, andererseits auf eine Barytweißplatte als Vergleichsstandard. Die Lichtreflexion von unbehandelter, nicht entzündeter Haut betrug im Bereich des Filters L 3 etwa 20—26 % der Reflexion von der Barytweißplatte. Die Messungen mit dem Stufenphotometer sind jedoch am genauesten bei Ablesung von etwa 50 %. Um bei den Messungen in diesen günstigsten Ablesungsbereich zu gelangen, wurde bei den allein verwerteten Hauptversuchen an Stelle der Barytweißplatte ein blaues Papier als Vergleichsstandard benutzt, dessen Reflexionsverhältnis zur Barytplatte 43 % betrug.

Es wurden zwei Blenden von 8 mm Durchmesser benutzt, die sowohl auf das blaue Papier als auch auf die zu messende Hautstelle gelegt wurden. Die Messung des von der Haut zurückgestrahlten Lichtes erfolgte durch Schwächung der vom blauen Papier zurückgestrahlten Helligkeit bis auf die Helligkeit des von der Haut zurückgeworfenen Lichtes. Die Werte wurden in % Helligkeit ausgedrückt. Für die normale unbestrahlte und unbehandelte Haut ergaben sich dann Werte von 46—55 %. Dies entspricht 20—24 % der Reflexion von dem gebräuchlichen Standard Barytweiß.

Der Abstand der Objektivlinsen vom Objekt wurde konstant gehalten, ebenso die Entfernung der Lichtquelle. Durch Einstellung des optischen Systems auf ∞ wurden die Oberflächenunterschiede zwischen Haut und blauer Papierfläche ausgeglichen.

Meine Werte für die Helligkeit der normalen menschlichen Haut weichen ab von den bei H. J. Oettel (11), Heubner und Albath (4), sowie Albath (5) gemachten Angaben. Dort sind für die menschliche unbehandelte Haut gegenüber der Barytweißplatte 80 % bzw. etwa 70 % Helligkeit angegeben. Wie diese Daten erhalten wurden, ist mir nicht verständlich.

Die oben angegebenen Werte von 20—26 % Helligkeit nähern sich den bei Bode (12) angeführten Werten, der bei Anwendung eines Monochromators bei 440 mμ 28—29 % Helligkeit maß. Zum weiteren Vergleich benutzte ich das Filter L 1 der Firma Carl Zeiss (wirksamer Filterschwerpunkt bei 6150 Å) und erhielt hier 44 % Helligkeit. Dies entspricht ebenfalls dem von Bode für 615 mμ angegebenen Wert von 44 % Helligkeit.

Die Versuche wurden an zwei Personen ausgeführt, an der Versuchsperson K. und an mir selbst (P.)

Die Unterschiede in der Helligkeitszunahme der bestrahlten Hautstellen nach Behandlung mit den einzelnen Azulenpräparaten bewegen sich in sehr engen Grenzen. Kurven in der Art der von Albath abgebildeten vermochte ich nicht darzustellen.

Die für die verschiedenen Stoffe gemessenen Werte sind in den verschiedenen Versuchen uneinheitlich.

Ergebnisse.

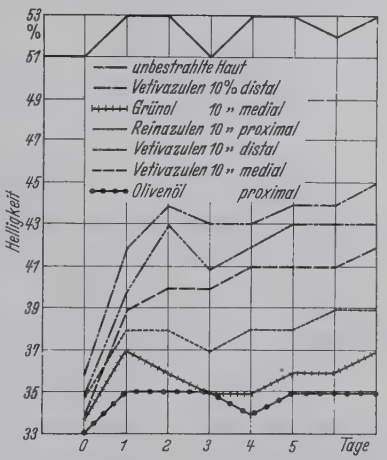
Bezeichnung u. Lage der Hautstelle	% Helligkeit bei täglicher Messung	Applizierter Stoff
	Versuch I P	
Unbestrahlte Haut	51 51 53 53 51 53 53 51 53	
a) distal	36 42 44 43 43 44 44 55	Vetivazulen 10% in Ol. oliv.
b) medial	34 37 36 35 35 36 36 37	Grünöl 10% „ „ „
c) proximal	35 38 38 37 38 38 39 39	Reinazulen 10% „ „ „
d) distal	35 40 43 41 42 43 43 43	Vetivazulen 10% „ „ „
e) medial	34 39 40 40 41 41 41 42	Vetivazulen 10% „ „ „
f) proximal	33 35 35 35 34 35 35 35	Olivenöl
	Versuch II P	
Unbestrahlte Haut	50 51 52 49 50 50 50 49	
a) distal	37 39 38 40 40 41 42	Reinazulen 10% in Ol. oliv.
b) medial	36 41 42*	Vetivazulen 10% „ „ „
c) proximal	36 37 36 37 37 37 39	Olivenöl
	Versuch III P	
Unbestrahlte Haut	51 50 50 51 49 51 50 50	
a) distal	35 37 39 39 41 40 40	Vetivazulen 10% in Ol. oliv.
b) medial	35 34 34 35 36 36 37	Reinazulen 10% „ „ „
c) proximal	34 34 35 36 35 35 36	Vetivazulen 10% „ „ „
d) distal	33 36 35 37 38 39 40	Olivenöl
e) medial	34 34 34 33 34 35 36	Grünöl 10% „ „ „
f) proximal	35 36 37 38 39 39 40	Vetivazulen 10% „ „ „
	Versuch IV P	
Unbestrahlte Haut	52 52 52 53 52 53 54 55	
a) distal	34 35 37 38 37 35 36	Vetivazulen 10% in Ol. oliv.
b) medial	34 34 37 36 36 28†22	Olivenöl
c) proximal	34 37 38 37 37 34 32	Vetivazulen 5% „ „ „
d) distal	35 36 40 39 38 36 36	Vetivazulen 10% „ „ „
e) medial	35 38 40 39 36 34 34	Vetivazulen 1% „ „ „
f) proximal	34 38 42 40 38 35 33	Vetivazulen 5% „ „ „
	Versuch V K	
Unbestrahlte Haut	48 47 48 46 48 48 47 48	
a) distal	33 35 34 36 38 40	Vetivazulen 10% in Ol. oliv.
b) medial	32 32 31 33 35 36 37	Olivenöl
c) proximal	32 32 30 32 33 34 34	Reinazulen 10% „ „ „
	Versuch VI K	
Unbestrahlte Haut	48 48 49 48 48 49 49	
a) medial	34 35 36 35 35 36	Olivenöl
b) proximal	35 37 38 37 37 37	Vetivazulen 10% in Ol. oliv.
c) distal	37 38 40 40 39 40	Reinazulen 10% „ „ „
d) medial	34 35 36 36 35 36	Grünöl 10% „ „ „
e) proximal	34 35 34 34 34 35	Restöl
	Versuch VII K	
Unbestrahlte Haut	50 50 50 48 50 49	
a) distal	35 35 36 36 37	Olivenöl
b) medial	35 35 36 35 36	Vetivazulen 1% in Ol. oliv.
c) proximal	36 36 35 34 33	Vetivazulen 5% „ „ „
d) proximal	34 34 34 33 31	Vetivazulen 10% „ „ „

* Wegen Blasenbildung konnten keine weiteren Werte gemessen werden. — † Hautstelle IV P b zeigt Blasenbildung, Abhebung der oberen Hautschicht und blaurote Verfärbung der darunter gelegenen Cutis.

Es scheint, daß die distal gelegenen, stärker an das Sonnenlicht gewöhnten Hautstellen in den meisten Fällen sich eher aufhellen als die proximal gelegenen. Als Beispiel hierfür führe ich die folgende Kurventafel an, auf der die aus Versuch I P gewonnenen Ergebnisse aufgezeichnet sind.

Die nach Bestrahlung mit dem Quecksilberquarzbrenner ausgebildeten Erytheme haben verschiedene Helligkeitswerte. Dies mag an dem verschiedenartigen Aufhellen proximal und distal gelegener Hautstellen liegen, kann aber auch dadurch bedingt sein, daß die einzelnen Hautstellen keine gleichmäßige Blutversorgung haben.

Mit Hilfe der verwendeten Methode war es nicht möglich, eine Helligkeitsherabminderung, die durch Entzündung hervorgerufen war, von einer durch Pigmentation erzeugten Herabsetzung der Helligkeit zu unterscheiden. Wegen der mangelnden Empfindlichkeit ist die benutzte Methode wenig brauchbar. Es wäre denkbar, daß die Methode empfindlicher wird, wenn man das Licht nach der von Bode (12) angegebenen Art spektral zerlegt.



Kurventafel: Änderung der Helligkeit menschlicher Haut nach Bestrahlung im Zeitpunkt 0 und verschiedenartiger Behandlung. Unbestrahlte Haut zum Vergleich (Versuch I P).

B. Senfölchemosis am Meerschweinchenauge.

Die von Heubner und Grabe (1) erprobte Methode wurde mit geringen Abänderungen benutzt.

Zur Erzeugung der Senfölchemosis am Meerschweinchenauge wurde also den Tieren eine 30%ige Allylsenföllösung in reinem Olivenöl eingeträufelt, und zwar zuerst rechts und links je ein Tropfen, nach 5 Minuten ein weiterer Tropfen. Die Chemosis trat rasch ein. Nach wenigen Stunden trat eine mehrere Tage anhaltende Hornhauttrübung auf.

Von den zu untersuchenden Substanzen wurde den Tieren alle 15 Minuten ein Tropfen in die Augen eingeträufelt, insgesamt 10 Tropfen, so daß jede Behandlung 15 Minuten nach der letzten Senfölapplikation begann und sich auf etwa $2^1/_2$ Stunden erstreckte.

In das linke Auge wurde die zu prüfende Substanz, in das rechte Auge reines Olivenöl eingeträufelt. Dabei wurden aber nicht so hohe Konzentrationen von Azulen wie bei Heubner, Grabe und Albath (1, 4, 5) verwendet, vielmehr der Azulengehalt der verwendeten Lösungen dem einer

etwa 10%igen Lösung von Kamillenöl angenähert. Bekanntlich ist das Azulen zu etwa 1% im Kamillenöl enthalten. [Vgl. z. B. Peyer (7. 13).]

Es wurden verwendet:

1. Reinazulen aus ungarischer Kamille	0,1%	in Ol. oliv.
2. Grünöl aus ungarischer Kamille	0,1%	
3. Vetivazulen (Präparat IV A 160)	0,1%	
4. Vetivazulen über Trotylat gereinigt	0,1%	
5. Grundazulen (Präparat HH 36)	0,1%	
6. Grundazulen (Präparat HH 36)	0,5%	
7. Reinazulen-Emulsion	0,1%	
8. Grünöl-Emulsion	0,1%	
9. Vetivazulen-Emulsion (IV A 160)	0,1%	
10. Grundazulen-Emulsion (HH 36)	0,1%	

Ergebnisse:

1. Mit Reinazulen wurden 8 Tiere behandelt. 6 Tiere (Nr. 11, 14a, 22, 25, 29, 31) zeigten auf dem linken Auge schon während der Behandlung eine deutlich geringer ausgeprägte Chemosis als rechts. Nr. 19 zeigte eine deutliche Besserung auf dem linken Auge gegenüber dem rechten erst am zweiten Tage. Nr. 12 bekam nach Einträufeln des 9. Tropfens auf dem linken Auge eine Blasenbildung. Das Tier kam am zweiten Tag der Behandlung aus unbekannter Ursache ad exitum.

2. Mit Grünöl wurden 5 Tiere behandelt. Tier Nr. 13 zeigte am ersten Behandlungstage eine etwas geringere Chemosis auf dem linken als auf dem rechten Auge. Die Tiere Nr. 15, 20, 23 und 30 zeigten jedoch weder am Behandlungstage noch an den darauffolgenden Tagen Unterschiede in der Ausbildung der Chemosis.

3. Mit Vetivazulen wurden 5 Tiere behandelt: Tier Nr. 9 zeigte am Behandlungstage links deutlich geringere Chemosis. Drei Tiere (Nr. 10, 14, 16) zeigten keinen Unterschied in der Ausbildung der Chemosis, Tier Nr. 13a sogar auf dem behandelten linken Auge eine eitrige Conjunktivitis.

4. Mit gereinigtem Vetivazulen wurden 3 Tiere behandelt. Zwei von ihnen (Nr. 23 u. 37) zeigten keinen wahrnehmbaren Unterschied in der Ausbildung der Chemosis. Tier Nr. 36 zeigte auf dem linken Auge sogar eine stärkere Hornhauttrübung als auf dem rechten.

5. Mit Grundazulen wurden 7 Tiere behandelt. Tier Nr. 24 zeigte am Behandlungstage auf dem linken Auge eine etwas geringer ausgebildete Chemosis als auf dem rechten Auge. Die übrigen sechs Tiere (Nr. 17, 18, 21, 26, 27, 28) zeigten jedoch keinen Unterschied in der Ausbildung der Chemosis und ihrem Abklingen.

6. Mit 0,5% Grundazulen wurden 3 Tiere (Nr. 32, 34 und 35) behandelt. Sie zeigten keinen Unterschied in der beiderseitigen Chemosis.

7. Mit Reinazulen-Emulsion wurden 5 Tiere behandelt. Bei dem Tier Nr. 38 war die Chemosis auf dem linken Auge erst nach 3 Tagen geringer ausgebildet als rechts. Doch waren bei den übrigen vier Tieren

(Nr. 8, 4, 41 und 52a) schon während der Behandlung die entzündlichen Erscheinungen links deutlich geringer als rechts.

8. Mit Grünöl-Emulsion wurden drei Tiere (Nr. 40, 53 und 54) behandelt. Es zeigte sich keine Differenz in der Chemosis.

9. Mit Vetivazulen-Emulsion wurden 4 Tiere behandelt. Tier Nr. 2 zeigte am Tage nach der Behandlung links geringere Chemosis als rechts. zwei weitere Tiere (Nr. 39 und 7) aber keinen Unterschied. Tier Nr. 42 bekam am ersten und zweiten Tage nach der Behandlung links sogar stärkere Conjunktivitis als rechts.

10. Mit Grundazulen-Emulsion wurden 3 Tiere behandelt. Zwei von ihnen (Nr. 44 und 46) zeigten keinen Unterschied in der Chemosis. Tier Nr. 45 jedoch rechts eine stärkere Hornhauttrübung als links.

Bei der Anwendung der verschiedenen Azulene am Meerschweinchenauge nach Senfölapplikation zeigte sich also, daß das Reinazulen der ungarischen Kamille in einer Konzentration, die etwa 10% Kamillenöl entsprach, sowohl in einer Lösung von reinem Olivenöl als auch in Lösungen, in denen das Öl als Vehikel ausgeschaltet war, eine deutlich erkennbare entzündungswidrige Wirkung hatte. Eindrucksvoll war, daß diese entzündungshemmende Wirkung schon während der Behandlung deutlich auftrat. Die Wirkung des Reinazulens der ungarischen Kamille kann also der des Reinazulens der deutschen Kamille gleichgestellt werden.

Das Grünöl der ungarischen Kamille zeigte weder in öliger noch in wässeriger Form eine entzündungswidrige Wirkung, verhielt sich also nicht entsprechend den von Albath (5) auf Grund seiner Versuche mit Grünöl aus deutscher Kamille gemachten Angaben.

Das synthetische Vetivazulen (IV A 160) zeigte in den verwendeten Konzentrationen nur in einzelnen Fällen eine entzündungshemmende Wirkung. Die bei zwei Tieren auf dem behandelten Auge stärker als auf dem Vergleichsauge aufgetretenen Conjunktivitiden lassen daran denken, daß das Vetivazulen möglicherweise in zu hoher Konzentration appliziert wurde und Reizerscheinungen hervorgerufen hat.

Das Grundazulen zeigte in der verwendeten Konzentration keine entzündungswidrige Wirkung.

Bei der Beurteilung dieser Ergebnisse ist allerdings in Betracht zu ziehen, daß die von mir verwendeten Präparate nicht ohne weiteres als chemisch rein anzusehen sind, mag dies auch für die Azulene (nicht für das Grünöl) angenähert erreicht worden sein.

Zusammenfassung.

1. Vier verschiedene Azulene:

a) Grundazulen, ein aus einem Fünfring und einem Siebenring zusammengesetzter, synthetisch hergestellter blauer Kohlenwasserstoff ($C_{10}H_8$),

b) Vetivazulen, ein synthetisch hergestellter, violettgefärbter Kohlenwasserstoff ($C_{15}H_{18}$),

c) Reinazulen, ein aus ungarischer Kamille gewonnener blauer Kohlenwasserstoff ($C_{15}H_{18}$),

d) Grünöl, ein aus ungarischer Kamille gewonnener grüngefärbter Kohlenwasserstoff ($C_{15}H_{16}$)

wurden auf ihre entzündungswidrige Wirkung hin geprüft.

2. Die von Heubner und Albath (4, 5) angegebene Methode wurde geprüft, abgeändert und wenig brauchbar befunden.

3. Am Meerschweinchenauge wurde mit Hilfe der Senfölchemosis eine entzündungshemmende Wirkung des aus der ungarischen Kamille gewonnenen Reinazulens gefunden. Grünöl aus ungarischer Kamille, synthetisches Vetivazulen und synthetisch hergestelltes Grundazulen erwiesen sich nicht als wirksam.

Literatur.

1) Heubner u. Grabe: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **171**, 329 (1933). — 2) Jaretzki u. Neuwald: Arch. Pharmaz. **277**, 50 (1939). — 3) Kaiser u. Frey: Dtsch. Apoth.-Ztg. **1938**, S. 93/94. — 4) Heubner u. Albath: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **192**, 393 (1939). — 5) Albath: Ebenda **193**, 619 (1939). — 6) Hesse, Altner, Zeppmeisel: Klin. Wschr. **1936**, S. 1485. — 7) Peyer: Dtsch. Apoth.-Ztg. **1941**, S. 257. — 8) Plattner u. Pfau: Helv. chim. acta **19**, 860 (1936). — 9) Plattner u. Pfau: Ebenda **20**, 224 (1937). — 10) Plattner u. Pfau: Ebenda **22**, 202 (1939). — 11) Oettel, H. J.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **183**, 641 (1936). — 12) Bode: Strahlentherapie **51**, 103 (1934). — 13) Peyer: Dtsch. Apoth.-Ztg. **1937**, S. 16. — 14) Wagner-Jauregg, Th., Arnold, Hüter u. Schmidt: Ber. dtsch. chem. Ges. **74**, 1522 (1941). — 15) Alois Kosch: Handbuch der deutschen Arzneipflanzen. Springer-Verlag, Berlin 1939.

Aus der genetischen Abteilung des Kaiser Wilhelm-Instituts Berlin-Buch, Leiter N. W. Timoféef-Ressowski, und der radiologischen Abteilung der Auer-Gesellschaft, Berlin N 65, Leiter Dr. P. M. Wolf.

Zur Methodik der Kreislaufzeitbestimmung beim Menschen.

Von

J. Gerlach, P. M. Wolf und **H. J. Born.**

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 13. November 1941.)

Im Jahre 1829 injizierte Eduard Hering in die Jugularvene eines Pferdes Kaliumeisencyanür und bestimmte die Zeit, nach der dieser Stoff im Blute des entsprechenden Gefäßes der anderen Seite nachweisbar wurde. Seitdem haben sich zahlreiche Physiologen mit der sogenannten Kreislaufzeit beschäftigt. Der Begriff ist in verschiedener Weise gefaßt worden. Einige verstanden darunter die „Umlaufzeit der ganzen Blutmenge", eine bei näherer Prüfung nicht haltbare Vorstellung. Andere definierten als Kreislaufzeit die Zeit, welche ein Blutpartikelchen braucht, um durch den Kreislauf von einer gegebenen Stelle des Gefäßsystems zur gleichen Stelle zurückzukehren. Auch diese Bestimmung bedarf der Verbesserung. Erstens ist die Strömungsgeschwindigkeit im Lumen eines Blutgefäßes nicht gleichmäßig, sondern im Zentrum größer als in der Peripherie. Zweitens kann ein Blutbestandteil zur Wiedererreichung eines festgelegten Ortes in der Blutbahn wechselnde Wege einschlagen. Drittens muß ein und dasselbe Partikelchen durchaus nicht wieder an die gleiche Stelle des Gefäßsystems gelangen, wenn man vom Herzen, sowie vom Anfangsteil der Aorta und Pulmonalarterie absieht. Unter Berücksichtigung der erwähnten Einwände lassen sich zwei verschiedene Definitionen der Kreislaufzeit geben: 1. Kreislaufzeit ist die kürzeste Zeit, in der ein Blutbestandteil von einem gegebenen Ort des Kreislaufsystems auf normalem Gefäßwege mit dem Blutstrom zu diesem Ort zurückgelangen kann. 2. Die Kreislaufzeit zwischen zwei verschiedenen Stellen des Blutgefäßsystems ist die kürzeste Zeit, in der ein Blutbestandteil auf normalem Gefäßwege mit dem Blutstrom von einer zur anderen Stelle gelangen kann. Zur Angabe eines Kreislaufzeitwertes gehört demnach wenigstens eine Ortsbestimmung. Es ist nicht möglich, wie es mitunter geschehen ist, die Kreislaufzeiten mehrerer Tierarten ohne eine solche Bestimmung zu vergleichen. Am einzelnen Tier sind die Kreislaufzeiten je nach Wahl des Ortes im Gefäßsystem recht wechselnd; als Beispiel sei ein Coronargefäß und ein peripheres Extremitätengefäß genannt. Die zweite der gegebenen Definitionen trägt der Bedeutung der Kenntnis der Blutströmungsgeschwindigkeit in be-

stimmten Bezirken, z. B. im kleinen Kreislauf, Rechnung. Beide Definitionen sind in den Arbeiten der letzten Jahre, wenn auch nicht immer ausgesprochen, so doch angewendet worden.

Das Grundprinzip der meisten Methoden zur Bestimmung der Kreislaufzeit ist das gleiche wie im Heringschen Versuch. Es besteht darin, am bestimmten Orte einen Stoff ins Blut zu bringen, den man an gleicher oder anderer Stelle des Gefäßsystems nachweisen kann, und die Zeit zwischen Einbringen und Beginn der Nachweisbarkeit zu messen. Allgemeiner kann man statt von Einbringen eines Stoffes von Veränderung der Blutbeschaffenheit und von späterem Nachweis des veränderten Blutes sprechen, da denkbar ist, daß als Indikator ein durch kurze Außenwirkung modifizierter Bestandteil des Blutes selbst benutzt wird. Die Methoden zur unmittelbaren Bestimmung der Strömungsgeschwindigkeit können zur Ermittlung der Kreislaufzeit nur für relativ kurze Abschnitte der Gefäßbahn gebraucht werden, da die Strömungsgeschwindigkeit sich ungleichmäßig verhält. Einen guten Überblick über die Verfahren zur Bestimmung der Kreislaufzeit haben 1937 Bock und Fink gegeben, auf deren Arbeit hingewiesen wird. Es gibt Methoden, die zur Messung der Kreislaufzeit nach beiden obenerwähnten Definitionen geeignet sind, während die Mehrzahl, wie alle mit Verwertung subjektiver Angaben der Versuchsperson, nur die Kreislaufzeit zwischen zwei Punkten zu bestimmen gestattet, von denen überdies einer nicht willkürlich festgelegt werden kann. Die Verfahren mit Benutzung subjektiver Angaben sind in ihrer Anwendung auf den Menschen beschränkt. Bei den üblichen objektiven Methoden, die klinisch verwendet werden, wird der nachzuweisende Stoff gewöhnlich in eine Cubitalvene gespritzt und die Zeit bestimmt, nach welcher er im Blut der Cubitalvene des anderen Armes erscheint. Diese Zeit kann man ohne großen Fehler als Kreislaufzeit nach der ersten Definition bezeichnen. Die Ergebnisse wechseln nach der Art der gebrauchten Substanz, worauf besonders hingewiesen werden muß; sie hängen u. a. von der Empfindlichkeit des Nachweises ab. Daher ist bei vergleichenden Kreislaufzeit-Untersuchungen die Anwendung stets der gleichen Methode zu verlangen.

Bei Experimenten über das Verhalten radioaktiver Stoffe im menschlichen Blute nach intravenöser Injektion tauchte der Gedanke auf, diese Substanzen auch zur Bestimmung der Kreislaufzeit zu benutzen. Die Einsichtnahme des Schrifttums ergab, daß dieser Gedanke nicht neu war. Die Methode ist 1927 von Blumgart, Yens und Weiss eingeführt und 1937 von Mc Cracken, Essex und Sheard weiter ausgebaut worden. Diese Forscher haben ein Verfahren entwickelt, mittels dessen der Nachweis der Radioaktivität ohne Blutentnahme durch Anbringen eines empfindlichen Meßgerätes, eines Geigerschen Zählrohres, möglich ist. Als Indikator diente Radium C oder Radon in physiologischer Kochsalzlösung. Die Zufuhr geschah in beiden Fällen durch Einspritzung in die Vene. Auf den besonderen Wert der radioaktiven Stoffe als Indikatoren haben Bock

und Fink bereits hingewiesen. Mit ihnen ließe sich ein gänzlich unblutiges Verfahren ausbauen, falls auch die Zuführung der Radioaktivität ohne Injektion erfolgen könnte. Diese Möglichkeit ist durch die Anwendbarkeit der gasförmigen Radiumemanation, die auf dem Atemwege ins Blut gebracht werden kann, gegeben. Damit könnte der Kreislaufabschnitt von den Lungenkapillaren über die Lungenvenen, das linke Herz und die Aorta bis zu den kleinen peripheren Arterien untersucht werden, der einen Teil des kleinen Kreislaufs enthält und damit auch für die Pathophysiologie besonders bedeutsam ist. Aus äußeren Gründen mußte von der Ausführung derartiger Versuche abgesehen werden. Der Hinweis darauf erfolgt zur Anregung der Kliniker. Die bisherigen Verfahren, die mit Indikatorzuführung durch Inhalation arbeiten, z. B. das Acetylenverfahren, verlangen meist zum Nachweis des Teststoffes eine Blutentnahme, die praktisch aus der Vene erfolgen muß. Damit verlängert sich der erfaßte Gefäßbereich in unerwünschter Weise um das periphere Kapillargebiet und die kleinen Venen. Wenn das Spezialzählrohr, dessen Herstellung in der Arbeit von Mc Cracken und Mitarbeitern genau beschrieben ist, zur Verfügung steht, dürfte die vorgeschlagene unblutige Methode einfach ausführbar und klinisch brauchbar sein.

Die eigenen Versuche wurden in der Verfolgung anderer Gedankengänge angestellt. Der Nachweis radioaktiver Stoffe geschieht durch eine sehr empfindliche Methode, die jedem chemischen Nachweisverfahren weit überlegen ist. Damit ist es möglich, nicht allein qualitativ das erste Auftreten der zugeführten Substanz nachzuweisen, sondern auch quantitativ das weitere Verhalten in der dem ersten Auftreten unmittelbar folgenden Zeit zu untersuchen und kurvenmäßig aufzunehmen. Insbesondere war beabsichtigt, zu prüfen, ob die Injektionsweise auf die Form dieser Kurven Einfluß hat oder nicht. Im ersten Falle würde die Kurvenform Anhaltspunkte für die Durchmischungsgeschwindigkeit geben und damit einen weiteren Einblick in die Kreislaufverhältnisse gestatten.

Die Experimente gliedern sich in zwei Gruppen. In der ersten wurde liegenden kreislaufgesunden Versuchspersonen in die rechte Ellenbogenvene eine genau bestimmte, von Versuch zu Versuch verschiedene, sicher unschädliche Menge von Thorium-X injiziert. Thorium-X ist ein radioaktives Isotop des Radiums, das schon nach 3,64 Tagen auf die Hälfte zerfallen ist. Wegen dieser kurzen Lebensdauer eignet es sich für Indikatorversuche besonders gut, da eine Kumulierung der Strahlenwirkung, wie sie bei langlebigen radioaktiven Substanzen auftritt, nicht zu befürchten ist. Außerdem ist das Thorium-X wegen der harten Strahlung seiner Folgeprodukte gut nachweisbar. In regelmäßigen Zeitabständen nach der Injektion wurden aus der Vene des linken Ellenbogens Blutproben entnommen. Man ließ das Blut in eine Reihe von Meßgläsern tropfen, die nach einer bestimmten Sekundenzahl jeweils gewechselt wurden. Ein Kubikzentimeter jeder Probe wurde dann auf einem kleinen Aluminium-

tellerchen eingetrocknet und mit einer dünnen Folie luftdicht verschlossen. Diese Maßnahme ist nötig, um ein Entweichen gewisser Anteile des aus dem Thorium-X entstehenden Thorons zu verhindern. Anderenfalls würden nämlich diese ganz unkontrollierbaren Anteile und der daraus entstehende „aktive Niederschlag" nicht zur Messung gelangen und daher die Meßergebnisse nicht mehr vergleichbar sein. Als Meßinstrument diente ein Geigersches Zählrohr, das schon oft beschrieben wurde [1].

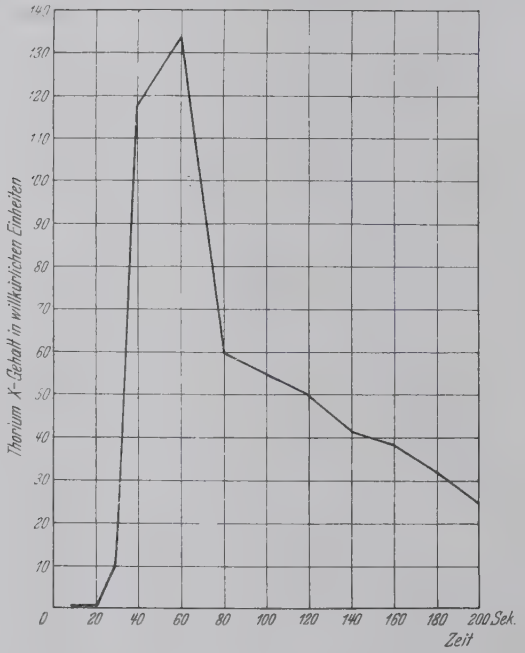


Abb. 1. Thorium-X-Gehalt des Blutes nach rascher Injektion in einem Zuge.

Die Resultate der Messungen sind in der Abb. 1 kurvenmäßig zur Darstellung gebracht. Wie aus dieser und den folgenden Abbildungen festzustellen ist, stimmen die gewonnenen Ergebnisse für die Kreislaufzeit der Cubitalvene mit denen durch andere Methoden erlangten befriedigend überein. Wegen des empfindlichen Nachweises wurden im allgemeinen lediglich etwas kleinere Werte erhalten (10—20 Sekunden). Je empfindlicher nämlich der Nachweis, um so niedriger rückt die Grenzkonzentration der Beimengung im Blute, bei der der Nachweis möglich ist, und um so eher wird natürlich diese Grenzkonzentration erreicht. Der weitere Kurvenverlauf

[1] Eine allgemeinverständliche Beschreibung siehe z. B. in dem Aufsatz „Anwendungen der Neutronen und der künstlich radioaktiven Stoffe in Chemie und Biologie" von H. J. Born, N. W. Timoféef-Ressowski und K. G. Zimmer in „Die Umschau", 1941, Heft 6.

kommt wohl so zustande, daß der den Anstieg verursachenden fortschreitenden Durchmischung sich die Resorption überlagert, die nach etwa einer Minute dann zu dem beobachteten Abfall führt. Diese Verhältnisse wurden in früheren Arbeiten näher betrachtet (Gerlach 1941, Wolf und Born 1941).

Die verhältnismäßig gute Reproduzierbarkeit der Kurven ermutigte dazu, nun in einer zweiten Gruppe von Experimenten die Abhängigkeit der Aktivitätskurven von der Injektionsweise zu untersuchen. Während die vorschriftsmäßige Injektion für die Kreislaufzeitbestimmung schnell und in einem Zuge erfolgen soll, um die nachzuweisende Substanz möglichst rasch und konzentriert in die Blutbahn zu befördern, wurde hier langsam oder in zwei raschen Stößen mit einer Pause von mehreren Sekunden gespritzt. Die ganz geringe Menge der aktiven Substanz war meist in 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung enthalten. Die Abb. 2—4 zeigen die Ergebnisse. Abb. 2 zeigt zunächst die ganz unregelmäßige Kurve nach sehr langsamer Injektion (1 ccm innerhalb 20 Sek.). Die Kreislaufzeit liegt unter 10 Sek. Das Bild kommt wahrscheinlich dadurch zustande, daß die kleine Flüssigkeitsmenge in der relativ langen Zeit nur in einer Reihe von Stößen

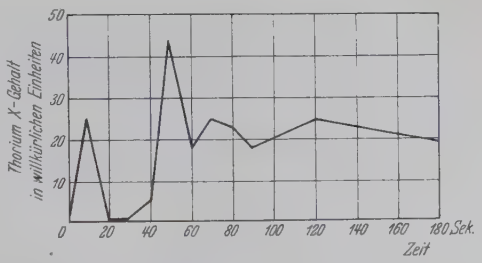


Abb. 2. Thorium-X-Gehalt des Blutes nach langsamer Injektion innerhalb von 20 Sekunden.

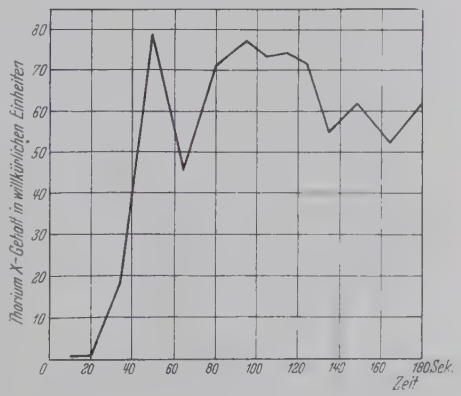


Abb. 3.

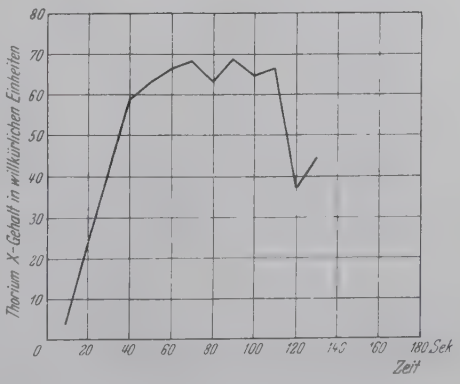


Abb. 4.

Abb. 3 und 4. Thorium-X-Gehalt des Blutes nach Injektion in zwei schnellen Stößen mit einer Pause von 5—6 Sekunden.

eingespritzt werden kann. Die Abb. 3 und 4 geben Kurven nach Zuführung des Thorium-X in zwei schnellen Stößen mit einer Pause von 5–6 Sek. Bei der Deutung dieser mehrgipfeligen Kurven muß man von der Überlegung ausgehen, daß während des Transportes von einer Vene zur anderen eine ständige Mischung des aktiven Blutes mit inaktivem in komplizierter Weise stattfindet, welche die Gipfel der Aktivitätskurve, die man beim Fehlen jeder Durchmischung zu erwarten hätte, erniedrigt und auch in ihrer Zahl vermindert. Die Durchmischung, deren Mechanismus jeder im Blute kreisende Stoff unterworfen ist, wird durch die Eigentümlichkeiten des Gefäßsystems als Röhrensystem mit seinen reichen Verzweigungen und seinen verschieden langen kollateralen Wegen bedingt. Sie verläuft wechselnd in Abhängigkeit von einer Reihe von Faktoren, von denen die schwankende Gefäßweite und Strömungsgeschwindigkeit in den einzelnen Kreislaufgebieten, die ihrerseits weitgehend funktionsabhängig sind, und Änderungen der Depotblutmenge erwähnt seien. Daher sind auch die Versuche unter möglichst ähnlichen äußeren Bedingungen vorgenommen worden. Die bei liegenden kreislaufgesunden Erwachsenen nach körperlicher Ruhe gewonnenen Kurven nach diskontinuierlicher Injektion sind einander sehr ähnlich. Bei Anwendung in der Klinik sollten die Proben bei nüchternen Versuchspersonen nach der Nachtruhe angestellt werden. Es bedarf der Nachprüfung, wie sich in Fällen von Kreislauferkrankungen Kurven nach stoßweiser Injektion verhalten. Denkbar ist, daß es hier charakteristische Bilder gibt, die diagnostischen Wert besitzen. Vorher aber sollte bei Gesunden der Einfluß der obenerwähnten Faktoren auf die Kurvenform erforscht werden, so z. B. derjenige wechselnder Körperlagen, körperlicher Arbeit, auch nur einzelner Muskelgruppen, des Füllungszustandes des Darmkanals usw.

Bei der hier beschriebenen Methodik liegt der Hauptwert der Verwendung radioaktiver Stoffe nicht wie beim Vorgehen von Blumgart, Sheard und Mitarbeitern in der Möglichkeit ihres unblutigen Nachweises, sondern in der Empfindlichkeit der Nachweisprobe, welche das Schicksal des Indikators im Blute genauer verfolgen läßt als bei jedem anderen auf dem gleichen Prinzip beruhenden Verfahren. Die Indikatormethode, die durch diese Nachweismöglichkeit außerordentlich kleiner strahlender Substanzmengen gekennzeichnet ist, hat in einigen Gebieten der Biologie bereits eine fruchtbare Anwendung gefunden. Auch in der Physiologie und Pathologie des Kreislaufs könnte sie noch zur Lösung mancher Probleme herangezogen werden.

Literatur.

Blumgart u. Yens: J. clin. Invest. (Am.) **4**, 1927. — Blumgart u. Soma Weiss, Ebenda. Bock, H. E. u. Alfred Fink: Zbl. inn. Med. **1937**, S. 49–66, 81–95. — Born, H. J., N. W. Timoféef-Ressowski, K. G. Zimmer: Die Umschau **1941**, Heft 6. Mc Cracken, Sheard, Essex: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **36**, 106 (1937). — Mc Cracken, Essex, Sheard: Amer. Heart J. **14**, 1937. — Gerlach, J.: Naturw. **1941**, Heft 20, S. 300. — Grollmann, A.: J. Physiol. (Brit.) **70**, 39 (1930). — Hering, Eduard: Z. Physiol. **3**, 85 (1829). — Wolf, P. M., u. H. J. Born, Strahlentherapie **70**, 1 und 342 (1941).

Aus der Pharmakobiologischen Abteilung des Instituto Nacional de Sanidad, Madrid.

Die Wirkung der Chinin-Camphosulfosäure auf das Froschherz.

Von

J. Ruiz-Gijon und D. Centenera*.

Mit 13 Textabbildungen (37 Einzelbildern.)

(Eingegangen am 23. September 1941.)

Bekanntlich hat das Chinin eine elektive Wirkung auf die fundamentalen Eigenschaften der Herzmuskelfasern, welche durch das Alkaloid verändert werden.

Auch wenn diese Wirkung keine große Rolle spielt, wenn es sich um therapeutische Dosen handelt, hat man trotzdem für seine klinische Verwendung verschiedene Kombinationen versucht, bei denen das Chinin mit einigen kardiotonischen Substanzen zusammengesetzt wird, um diesen schädlichen Einfluß auszugleichen. Das geschieht öfters, wenn eine Zirkulationsschädigung besteht, wie z. B. bei Vorhofsflimmern, paroxysmaler Tachykardie, Arhytmia perpetua und Pneumonie, bei denen das Chinin empfohlen wird, usw.

Es besteht auch die Möglichkeit, chemische Verbindungen zu erhalten, bei denen das Chinin als Base sich mit einem Säureradikal von kardiotonischer Wirkung vereinigt, um dasselbe Ergebnis zu erreichen.

Die Camphosulfosäure, die man durch Einwirkung von Chlorsulfosäure auf Campher gewinnen kann, hat dieselben pharmakologischen Eigenschaften wie dieser und stellt darüber gewisse Vorteile dar, wie die bessere Löslichkeit, kleinere Toxizität und die größere Fähigkeit, mit Metallradikalen und alkaloidischen Basen Komplexverbindungen zu bilden. Theoretisch konnte man erwarten, daß die Chinin-Camphosulfosäure (Csq) eine weniger ungünstige Herzwirkung ausüben wird als das Chinin, da, wie aus der Pharmakologie des Camphers sich ergibt, diese Substanz eine günstige Wirkung auf den Herzmuskel hat, wenn dieser durch verschiedene Pharmaka verändert ist (Chloralhydrat, Digitalis, Strophanthus usw.).

Die vorstehende Arbeit wurde gemacht, um diese theoretische Voraussetzung zu konstantieren. Sie hat außerdem Interesse, da die pharmakologische Wirkung der Csq noch nicht studiert worden ist.

Die Csq, die wir dazu verwendet haben, wurde uns von der Firma Abello zur Verfügung gestellt, die dieselbe seit 1934 in der Pneumoniebehandlung eingeführt hat.

* Wissenschaftliche Abteilung der Firma Abello.

Das umkristallisierte Produkt hatte die nachstehenden physikochemischen Eigenschaften: sehr gut in Wasser und Alkohol lösliche Nadelkristalle; unlöslich in Äther und in den meisten organischen Lösungsmitteln; bitterer Geschmack. Die wässerigen Lösungen zeigen eine schöne blaue Fluoreszenz und reagieren leicht sauer auf Lackmus. Schmelzpunkt 210° C.

Als Versuchstiere wurden Eskulenten, deren Gewicht zwischen 32 und 95 g schwankte, benutzt.

Anfangs arbeiteten wir an Herzen, die nach Clark perfundiert wurden. Die Ringer-Lösung hatte folgende Zusammensetzung: ClNa 6,498, ClK 0,189, Cl_2Ca 0,085, $NaHCO_3$ 0,500 g auf ein Liter.

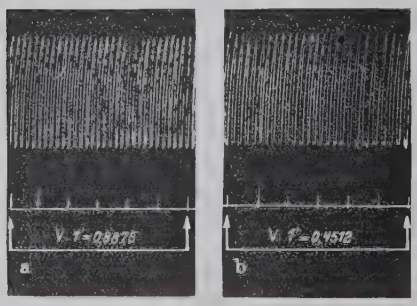


Abb. 1.

Die Csq wurde in Ringer gelöst und die Lösungen jedesmal frisch bereitet. Gleichzeitig haben wir die Herzschläge graphisch registriert. Die so erhaltenen Daten erlaubten uns nicht, eine gründliche Erkenntnis des funktionellen Veränderungsgrades der untersuchten Herzen, da, wie man in Abb. 1 ersehen kann, die Herzschlagamplitude bei diesen Herzen nicht parallel mit der Herzminutenvolumenschwankung ging. Die Abbildung stellt die Ausschläge eines Herzens vor (*a*) und nach (*b*) der Perfusion mit Csq in einer Konzentration von 1 : 30000 dar. Daraus ersieht man, daß die Amplitude und Frequenz kaum verändert wurden, während das Minutenvolumen (unten bemerkt) eine Verminderung um die Hälfte erlitt.

Deshalb machten wir eine andere Untersuchungsserie, in welcher wir das Verhalten des Minutenvolumens bei Herzen studierten, die mit verschiedenen Csq-Konzentrationen perfundiert wurden. Die dazu angewandte Technik war die von Bülbring 1930 veröffentlichte: In einem freigelegten Herzen wird eine feine Kanüle in die Cava inferior eingeführt; die rechte Aorta wird abgebunden und eine andere Kanüle in die linke Aorta angebracht. Die erste Kanüle ist in Verbindung mit zwei Mariottschen Flaschen, die die Ringer-Lösung und die Csq-Lösung enthalten, so daß man die Perfusionslösung beliebig wechseln kann, ohne daß sich inzwischen der Druck, der in beiden Flaschen derselbe sein soll, verändert. Der Perfusionsdruck (Höhe der Lösung in den Flaschen) bestimmt die Zuflußmenge zum Herz. Die Höhe wurde so eingestellt, daß das Minutenvolumen maximal war.

Die freie Zuflußmenge für die Kanüle war für die verschiedenen Drucke, mit denen wir gearbeitet haben, die in folgender Tabelle angegebene:

Höhe cm	Zuflußmenge in 1 Min. ccm
5	21
6	23
7	26
8	30
9	33

Zur Ergänzung der erwähnten Methoden haben wir auch mehrere Elektrokardiogramme gemacht. Die dazu verwendete Technik war folgende: 1 Stunde nach der Injektion von 2 ccm einer 0,1%igen Kurarelösung in den Lymphsack wurde das zu untersuchende Mittel ebenfalls in den Lymphsack injiziert und nach $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde das Elektrokardiogramm aufgenommen. Wir verwendeten 1 ccm Csq-Lösung in einer Konzentration von 1 : 1000.

Als Elektroden benutzten wir zwei Silbernadeln, die kurz bevor mit Silberchlorid elektrolytisch belegt waren. Das Ekg wurde immer in der zweiten Ableitung (rechtes Schultergelenk-Abdomen) aufgenommen. Die Elektroden wurden während der Zwischenzeit nicht bewegt.

Unsere Ergebnisse geben wir nachstehend an:

I. Perfusionsversuche nach Clark.

Um die Sicherheit zu haben, daß die erhaltenen Veränderungen von p_H-Schwankungen der verwendeten Csq-Lösungen nicht verursacht

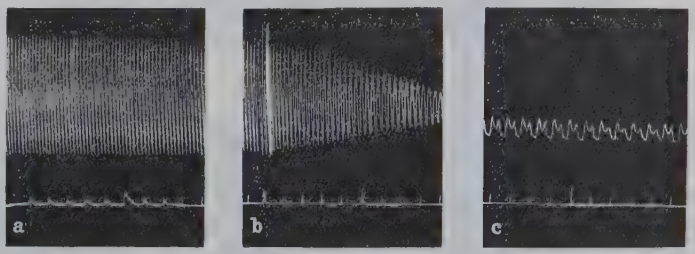


Abb. 2.

wurden, haben wir die p_H-Werte der verschiedenen Lösungen potentiometrisch bestimmt.

Die so erhaltenen Veränderungen waren so klein, daß kein Einfluß anzunehmen war.

p_H der Ringer-Lösung = 7,50,
p_H der Csq-Lösung 1/5000 = 7,36,
p_H der Csq-Lösung 1/10000 = 7,40.

Bei einer Csq-Konzentration von 1/5000 wird das Herz in einigen Minuten zum Stillstand gebracht (Abb. 2). Dabei tritt eine zunehmende Herabsetzung der Schlagfolge und Verkleinerung der Ausschläge bis zum völligen Stillstand auf. Öfters stellt sich ein mehr oder weniger kompletter Vorhofkammerblock ein, wie man in Abb. 2 ersehen kann. Bei diesem Still-

stand bleibt die Kammer in einer Mittellage zwischen Systole und Diastole, während die Vorhöfe und der Sinus, die noch länger schlagen, sich in ausgesprochener Diastole halten.

Bei einer Csq-Konzentration von 1/10000 wird ebenfalls eine Frequenz und Amplitude Verminderung erhalten, die auch nach längerer Zeit zum Stillstand führt.

Größere Dilutionen — 1/20000 bis 1/40000 verursachen nur kleine Effekte, die als geringe Herabsetzung der Schlagfolge sich äußern.

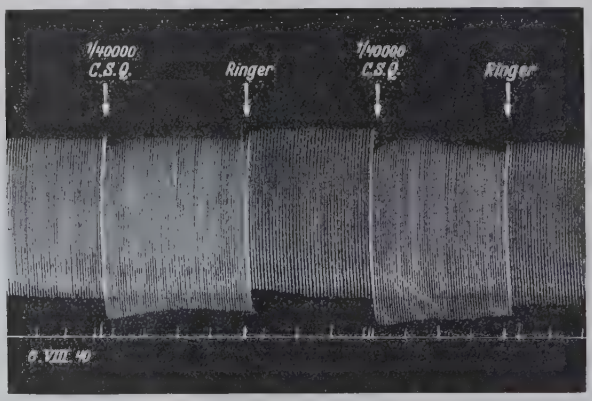


Abb. 3.

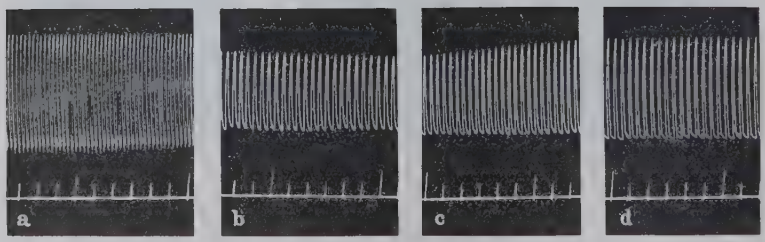


Abb. 4. *a* mit Ringer-Durchströmung; *b* nach 14 Min. Chloralhydratperfusion; *c* 1 Min. nach Ersatz der Chloralhydratlösung durch Csq 1/60000; *d* nach 6 Min. Csq-Durchströmung.

Bei höheren Verdünnungen über 1/40000 kann man manchmal eine Zunahme der diastolischen Füllung erhalten, wie es auch für die Chininsalze zumal beschrieben worden ist.

Wenn man sich auf diese Daten beschränkt, kann gesagt werden, daß die Csq-Lösungen bei einer Konzentration zwischen 1/40000 und 1/100000 niemals eine Vergrößerung der Kontraktionsenergie des normalen Herzens verursacht; diese Konzentrationen, mit Ausnahme der ständigen Herabsetzung der Schlagfolge, scheinen keinen beträchtlichen Einfluß auf das Herz auszuüben.

Unregelmäßigkeiten der Schlagfolge, wie sie nach durch Präparation hervorgerufenen Gewebsschädigungen gelegentlich vorkamen, wurden durch Csq manchmal behoben, was auch für verschiedene Chininsalze von Santesson und anderen beschrieben worden ist.

Der Ersatz der Perfusionslösung durch Csq 1/60000 in Herzen, die mit Chloralhydrat vorher vergiftet wurden, verursachte eine Verstärkung der Schlagenergie ohne Frequenzänderung (Abb. 4).

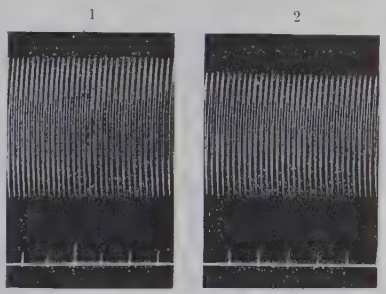


Abb. 5a. Durchströmung mit Csq 1/60000
1. mit Ringer,
2. nach 5 Min. Csq.

Abb. 5a.

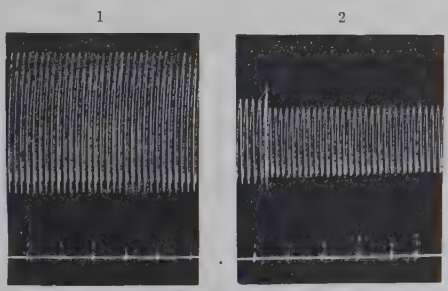


Abb. 5b. Durchströmung mit Clq (äquivalenter Chiningehalt)
1. mit Ringer,
2. nach 5 Min. Clq.

Abb. 5b.

Vergleichende Untersuchungen mit Chinin-Chlorhydrat in Lösungen, die einen äquivalenten Chiningehalt hatten, lassen deutlich ersehen, daß das Chlorhydrat eine größere toxische Wirkung als die Csq ausübt (Abb. 5).

II. Minutenvolumen-Bestimmungen.

Die Csq, in den studierten Konzentrationen (1/20000 bis 1/90000) führt immer zu einer Herabsetzung des Minutenvolumens, wenn man normale Herzen durchströmt. Dieser Effekt läßt sich durch Ersatz der Csq-Lösung mit Ringer-Lösung ausgleichen.

Wenn man aber an vorher mit Chloralhydrat vergifteten Herzen arbeitet, so wird zuerst eine sehr auffallende Zunahme des Minuten-

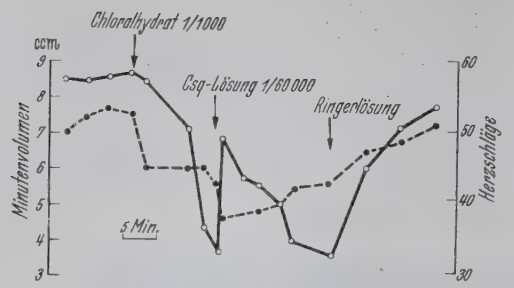


Abb. 6.
—○—○— Minutenvolumen. - - ●- - -●- - Herzschläge. Zahlen links = Minutenvolumen Zahlen rechts = Herzschläge.

volumens betrachtet, wie es auch mit dem Camphergeschieht. Bald danach äußert sich eine neue Verminderung der Herzleistung, die auf eine verzögerte Chininwirkung zurückzuführen ist (Abb. 6).

Aus diesen Untersuchungen ist zu schließen, daß in dem Komplex

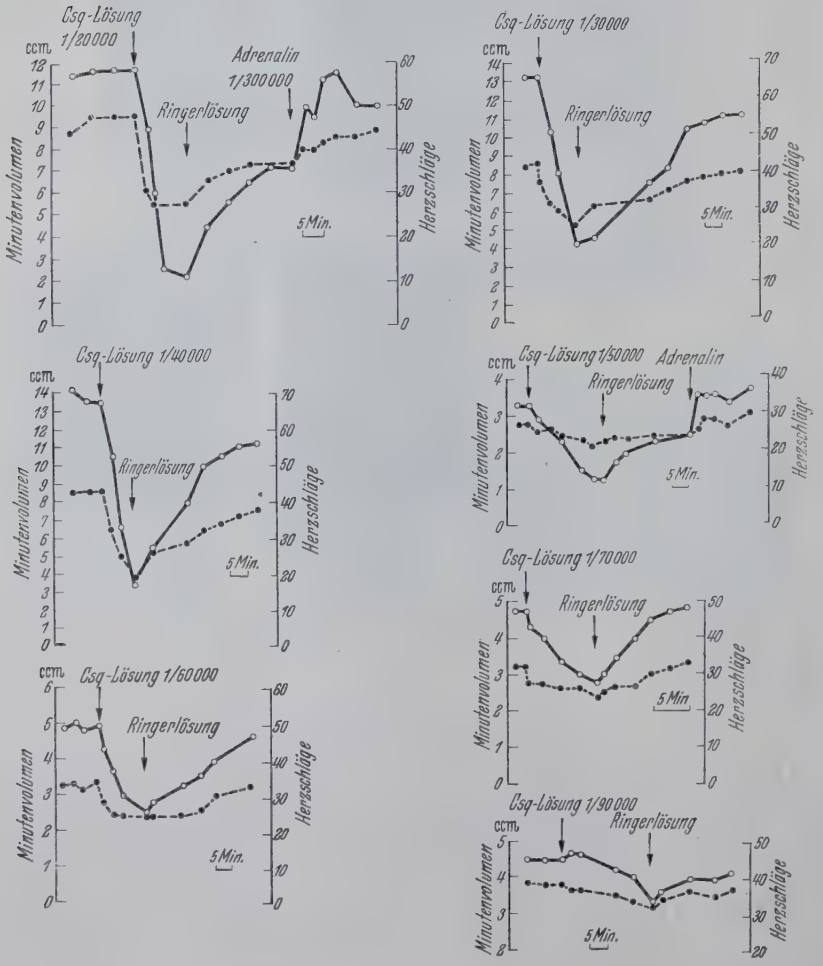


Abb. 7. —○—○— Minutenvolumen (Zahlen links). - - ●- - -●- - Herzschläge (Zahlen rechts).

Chinin-Camphosulfosäure, der Campher noch seine kardiotonische Wirkung bewahrt, aber nicht imstande ist, die herabsetzende Wirkung des Chinins vollkommen auszugleichen.

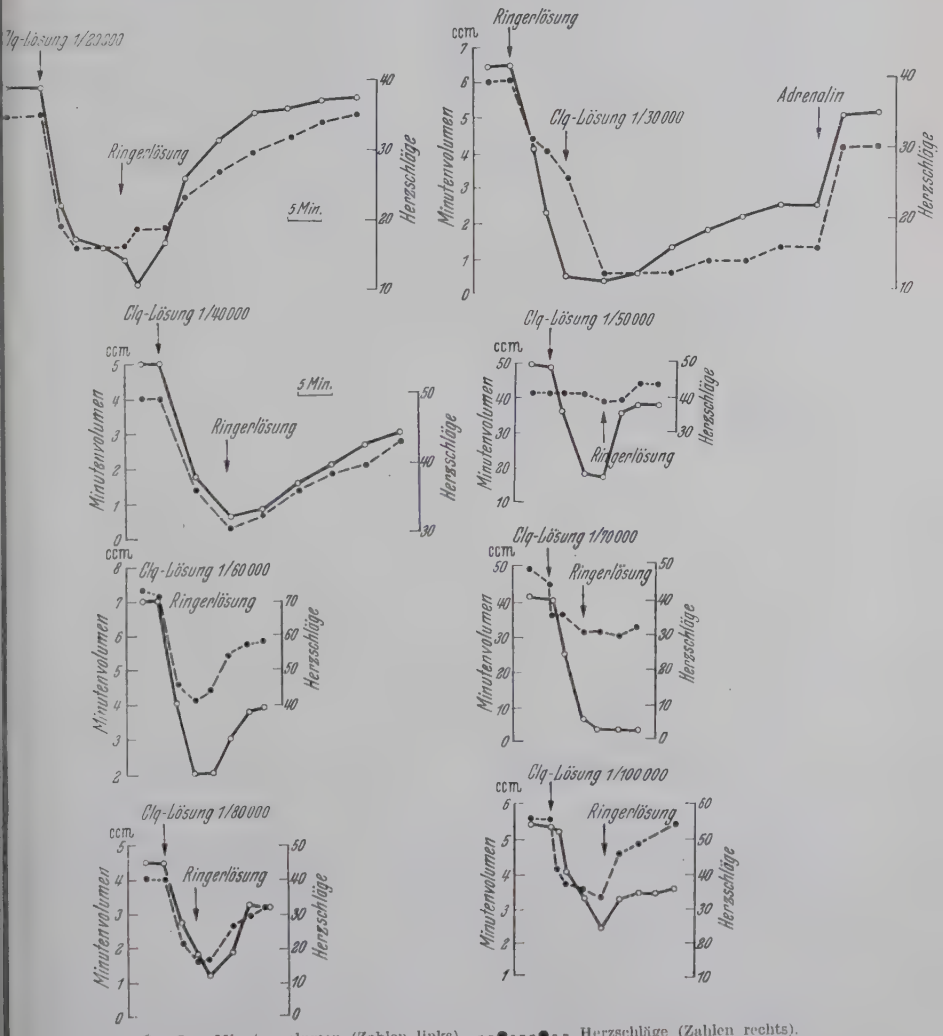


Abb. 8. —○—○— Minutenvolumen (Zahlen links). - - ●- - - ●- - Herzschläge (Zahlen rechts).

Trotzdem war von großem Interesse, zu konstatieren, ob die Csq eine kleinere toxische Wirkung als das Clq hatte, weshalb wir eine neue Versuchsreihe unternahmen, um die Wirkung beider Salze zu vergleichen.

Die verwendeten Chinin-Chlorhydratlösungen hatten einen äquivalenten Chiningehalt wie die vorher studierten Csq-Lösungen. Die erhaltenen Werte sind in Abb. 7 und 8 graphisch dargestellt. Aus den entsprechenden Kurven kann man ersehen, daß die Csq im allgemeinen (mit der einzigen Ausnahme von Konzentration 1/20000) eine kleinere Herabsetzung der Kontraktionsenergie als das Clq verursacht und daß die Wiederherstellung der normalen Tätigkeit nach Csq schneller und vollständiger erreicht wird als nach Clq-Verwendung.

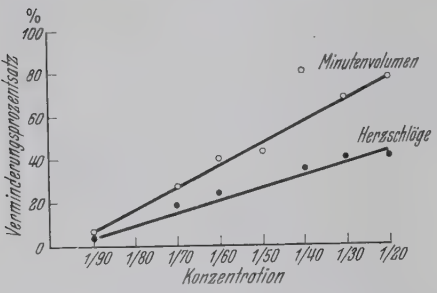


Abb. 9. Zahlen links = Verminderungsprozentsatz. Zahlen unten = Konzentration. ○ *Vm* = Minutenvolumen. ● *Contr.* = Herzschläge. Wirkung verschiedener Csq-Konzentrationen.

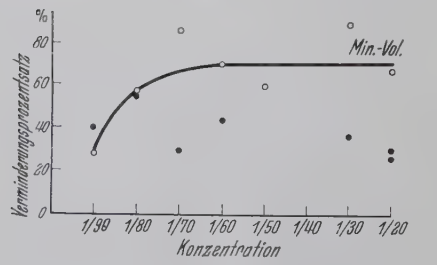


Abb. 10. Zahlen links = Verminderungsprozentsatz. Zahlen unten = Konzentration. ○ Minutenvolumen. ● Herzschläge.

Wie aus dem Vergleich der Minutenvolumen- und Pulskurve zu sehen ist, wird diese Wiederherstellung durch alleinige Beeinflussung der Kontraktionsenergie erreicht, da die Pulsfrequenz sich sehr langsam ausgleicht. Da das Minutenvolumen in ungleicher Weise von der Kontraktionsenergie und der Schlagfrequenz beeinflußt wird, haben wir die Abb. 9 dargestellt, wo man deutlich bemerken kann, daß die Volumenverminderung von der zusammengesetzten Herabsetzung beider Faktoren abhängt. Aus dem geraden Verlauf der beiden Linien ist zu entnehmen, daß die Leistungsverminderung proportional der angewandten Dosis ist (mit Ausnahme von Konzentration 1/40000). Die mit Clq erhaltenen Werte zeigten keine so deutliche Proportionalität (Abb. 10). Sein Verhalten konnte man ungefähr mit der bei Abb. 12 aufgezeichneten Linie ausdrücken, obwohl sie ja nicht mathematisch errechnet worden ist.

In Abb. 4 haben wir den Verminderungsprozentsatz nach 10 Min. Durchströmung von Csq und Clq zusammengestellt. Die größere toxische Wirkung des Clq, die aus der größeren Abweichung der entsprechenden Punkte sich ergibt, ist gut zu erkennen. Nur bei Csq-Konzentration 1/20000 ist die Leistungsverminderung ausgeprägter, was bei dieser starken Konzentration durch eine addierte toxische Wirkung des Chinins und des Camphers zu deuten ist.

Aus diesen Ergebnissen geht hervor, daß die Csq eine gleichmäßigere Wirkung auf das Myokard ausübt als das Clq, was mit der kleineren Toxizität und dem schnelleren Ausgleich seiner Effekte ihr eine relative Superiorität gibt.

Die nicht so rasche Wiederherstellung der Schlagfolge, die aus dem Vergleich der Abb. 6 und 7 zu bemerken ist, erklärt sich durch die hemmende Wirkung des Camphers. Diese Wirkung addiert sich mit der des Chinins, was diesem Komplex ein besonderes Interesse in jenen Fällen von Rhythmusstörungen verleiht, bei denen eine Chininbehandlung zu empfehlen ist. Vielleicht würde man mit kleineren Dosen denselben Nutzeffekt erreichen können. Darüber haben wir weitere Untersuchungen im Gange.

III. Elektrokardiographische Untersuchungen.

Bei den verschiedenen, von uns aufgenommenen Elektrokardigrammen waren folgende Veränderungen festzustellen:

1. Die Herzfrequenz geht deutlich herunter.
2. Die Dauer des ganzen Ekg war erheblich langer, besonders die $Q-T$-Strecke.

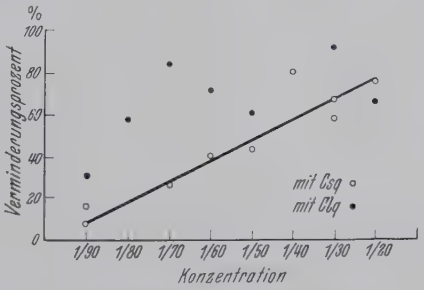


Abb. 11. Zahlen links = Verminderungsprozentsatz (Volumenminuten). Zahlen unten = Konzentration. ○ mit Csq; ● mit Clq.

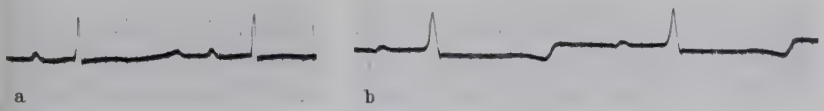


Abb. 12. *a* Vor Csq-Injektion. *b* 15 Min. nach Csq-Injektion.

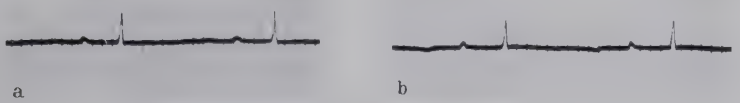


Abb. 13. *a* und *b* wie in Abb. 12

3. Die T-Zacke hatte eine ausgesprochene Tendenz zum Flacher- oder Negativwerden.

Als vorherrschender Befund bemerkten wir eine Verlangsamung der Reizbildung und der Erregungsleitung, wie es in Abb. 11 und 12 zu sehen ist.

Zusammenfassung.

In vorliegender Arbeit haben wir die Wirkung der Csq auf das Froschherz untersucht. Bei diesen Untersuchungen haben wir die am isolierten Herz von Clark angebrachte Durchströmungsmethode und die Minutenvolumenbestimmung nach Bülbring verwendet. Diese Ergebnisse sind mit einem elektrokardiographischen Studium ergänzt.

Die erhaltenen Resultate waren folgende:

1. Im Komplex Chinin-Camphosulfosäure bewahrt der Campher seine kardiotonische Wirkung, wie es an vergifteten Herzen mit Chloralhydrat zu beweisen ist. Diese fördernde Wirkung dauert nur kurze Zeit, nach welcher wieder eine durch das Chinin verursachte hemmende Wirkung einsetzt.

2. An normalen Herzen ist diese fördernde Wirkung nicht zu beobachten. Trotzdem hat die Csq im Vergleich zu dem Clq in äquivalenten Dosen eine kleinere toxische Wirkung. Sie ist regelmäßiger und proportional der angewandten Dosis, was nicht bei dem Clq der Fall ist. Die durch beide Salze hervorgerufenen Veränderungen können sich nach Ringer-Perfusion wieder ausgleichen.

3. Nach Csq wird die Kontraktionsenergie schneller ausgeglichen als die Schlagfolge, während bei Clq ein entgegengesetztes Verhalten zu beobachten ist.

4. Herzen, bei welchen durch Präparation Rhythmus- und Frequenzstörungen hervorgerufen waren, wurden wieder zu einer normalen Tätigkeit angeregt.

5. Die Csq wirkt auf das Herz in gleicher Weise wie die anderen Chininsalze, und zwar durch Beeinflussung der Ino-Chrono- und Dromo-Tropie der Herzmuskel.

6. Die Schlagfrequenzverminderung war bei der Csq größer als bei Clq, was durch eine addierte (negative) chronotropische Wirkung beider Radikale dieses Salzes zu erklären ist. Dieses Verhalten verleiht demselben ein beonderess Interesse in der Behandlung der Rhythmusstörungen, worüber wir weitere Versuche im Gange haben.

Literatur.

1) Bülbring: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **152**, 257 (1930). — 2) Santesson: Ebenda **32**, 327 (1893).

Aus dem pharmakologischen Institut der Tisza-István-Universität Debrecen.
(Direktor: Dr. A. v. Jeney, ord. öff. Prof.)

Pharmakologische Wirkung des auf fermentativem Wege und des synthetisch gewonnenen glycerinphosphorsauren Cholinesters.

Von

A. v. Jeney, I. Mihalik und J. W. Uri.

Mit 11 Textabbildungen (39 Einzelbildern).

(Eingegangen am 17. September 1941.)

Á. v. Bókay war der erste (1877), der sich mit dem fermentativen Abbau des Lecithinmoleküls befaßte. Spätere diesbezügliche Mitteilungen stammen von O. Meyer (1906). Im Hinblick auf die pharmakologische Wirkung der Lecithinabbauprodukte verfügen wir derzeit nur über spärliche Daten, obwohl ein Abbau des zusammengesetzten Lecithinmoleküls im Organismus sicherlich und z. T. in einer bekannten Weise stattfindet.

Neulich wurden die Kenntnisse dieses Problems durch die umfangreichen und sorgfältigen Untersuchungen von A. Contardi und A. Ercoli, die zur Erkenntnis und Isolierung der Enzyme Lecithase „A" und „B" führten, wesentlich gefördert. Während durch Lecithase „A" sich nur der ungesättigte Fettsäurerest der Lecithide verseifen läßt, wodurch die hämolytisch wirksamen Stoffe Lyso-Lecithin (Lysocithin) und Lysokephalin entstehen, werden durch Lecithase „B" beide Fettsäurereste des Lecithins sowie die im Lysolecithin zurückgebliebene gesättigte Fettsäure abgespaltet, wodurch in beiden Fällen glycerinphosphorsaurer Cholinester („Glphch.") entsteht. Dieser Ester wird von der Cholinphosphatase gespalten, so daß Cholin und Glycerinphosphorsäure („Glph.") entstehen, letztere aber zerfällt unter der Wirkung der Glycerophosphatase in Glycerin und Phosphorsäure. Lecithase „C" spaltet nur das Cholin ab. Lecithase „D" wieder zersetzt die Lecithide in cholinphosphorsaure Ester und Mono- oder Diglyceride. Von diesen Enzymen ist nur die Wirkung von Lecithase „A" und „B" bewiesen. Nun behauptet aber Guggenheim, Cholinphosphat in der Leber und, in geringen Mengen, auch in der Nachgeburt (D. Smyth) und wahrscheinlich auch in der Spermaflüssigkeit (Lévy) nachweisen zu können. Unter Phosphatasewirkung zerfällt das Cholinphosphat in Phosphorsäure und Cholin (Beznák und Chain). O. Eichler weist in seiner Arbeit (1939) darauf hin, daß es Outhouse gelungen ist (1937), im Geschwulstgewebe Aminoäthylphosphorsäure nachzuweisen, einen Stoff, der in einer leicht vorstellbaren Weise auch eine Vorverbindung des Cholinphosphates sein dürfte. Von den Bestandteilen

des Lecithinmoleküls wurden „Glph." und die Fettsäuren hinsichtlich ihrer pharmakologischen Wirksamkeit 1935 von Jeney und Méhes geprüft. Ihre Ergebnisse lassen sich im folgenden kurz zusammenfassen: 1. „Glph." übt eine milde cholinartige Wirkung aus; 2. die Fettsäuren des Lecithins rufen ebenfalls eine kurzdauernde, mäßige (3—20 mm Hg) Blutdrucksenkung hervor, die durch Atropin behoben werden kann; 3. Verdünnungen von 1 : 1000 und 1 : 100 des aus „Glph." und Fettsäuren des Lecithins hergestellten Gemisches führen ebenfalls eine milde (3—32 mm Hg) Blutdrucksenkung herbei. Nach Verabreichung dieser Stoffe in den Kreislauf steigt die Adrenalinempfindlichkeit des Organismus etwas an. Zur Auslegung dieser Erscheinung wurde angenommen, daß die zwei Stoffe mit den im Blute befindlichen Cholinmolekülen Lecithinmoleküle bilden, weshalb der Adrenalin-Cholin-Antagonismus infolge der Abnahme des Blutcholinspiegels — weniger zur Geltung kommt.

Die pharmakologische Wirkung des Cholinphosphates wurde von O. Eichler erforscht. In seinen Katzenversuchen kam es nach der Verabreichung von 0,5 mg Cholinhydrochlorid pro kg Körpergewicht, schon zu einem beträchtlichen Abfall des Blutdruckes, während die gleiche Menge von Cholinphosphat noch unwirksam war. 5—10 mg/kg Cholinphosphat führte zu einem Blutdruckanstieg; diese sympathicotrope Wirkung kam selbst nach Dekapitation und Nebennierenentfernung, sogar nach einer Vorbehandlung mit Nikotin oder Atropin zustande. Gleichzeitig mit dem Blutdruckanstieg kam es zur Darmatonie. Auf Ergotaminpräparate erfolgte eine Umkehrung dieser adrenalinähnlichen Wirkung des Cholinphosphates, sowohl in bezug auf den Blutdruck als auch auf die Därme. Eine parasympathische Wirkung des Cholinphosphates konnte weder an der Bronchusmuskulatur noch am Verhalten der Pupillen beobachtet werden, lediglich die Speichelsekretion und die Absonderung der Bronchialdrüsen wurden erhöht.

In unseren Versuchen wurde sowohl die Wirkung des auf fermentativem Wege gewonnenen „Glphch."s wie auch die des von uns mit der unten zu besprechenden Methode synthetisch hergestellten Präparates studiert.

Herstellung von glycerinphosphorsaurem Cholinester auf fermentativem Wege. Herstellung von Lecithase „B" (nach Contardi und Ercoli).

Nach der Originalvorschrift der Verfasser wurde 1 kg vor einigen Monaten gemahlene und ohne besondere Sorgfalt aufbewahrte Reiskleie in 3 Liter Wasser suspendiert, mit 10 ccm Chloroform versetzt und wiederholt umgeschüttelt, bis eine homogene Masse entstand. Nun wurde die Flüssigkeit 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen und auf ein Faltenfilter gegossen. Der auf dem Filter zurückgebliebene Rest wurde wieder in 2 Liter Wasser suspendiert und durch ein großes Faltenfilter wieder filtriert. Die vereinigten Filtrate wurden in Vakuum bei 40° C

auf $^1/_2$ Liter eingedampft. Um einen cholin- und phosphatfreien Auszug zu erhalten, haben wir die sirupdicke, 500 ccm betragende Substanz zunächst mit Bariumhydroxyd behandelt, bis ihre saure Reaktion sich in schwach alkalische verwandelte. Hierdurch ließen sich die anorganischen Phosphate und der überwiegende Anteil der organischen phosphorhaltigen Verbindungen entfernen. Zur Entfernung des nach der Behandlung mit Barytwasser entstandenen weißen Niederschlages wurde die Flüssigkeit filtriert, das Filtrat mittels Milchsäure auf das ursprüngliche p_H von 5,4 eingestellt, und in Vakuum bei 40° C bis zur Sirupdicke eingedampft. Nun haben wir den Sirup in 1000 ccm in einem Meßzylinder in dicker Schicht befindlichen absoluten Alkohol in dünnem Strahl gegossen und den Alkohol vom gebildeten Enzymniederschlag dekantiert. Der Niederschlagrest wurde in wenig Wasser gelöst und mit frischem, absolutem Alkohol wieder gefällt. Der Vorgang wurde solange wiederholt, bis die Florence-Reaktion negativ ausfiel, d. h. in der Flüssigkeit kein freies Cholinmolekül vorhanden war. — Das Florence-Reagens besteht aus Jod und Kaliumjodid (K J 1,65 g, J_2 2,44 g, H_2O 30 g). Aus dem zu prüfenden Stoff und dem Reagens werden je 1 Tropfen auf einen Objektträger gefällt und mit Deckglas bedeckt. Das Präparat ist unter dem Mikroskop sofort zu untersuchen. In der Anwesenheit von Cholin erscheinen in kurzer Zeit nadel-, kreuz- oder sternförmige Kristalle in schnell wachsender Anzahl; die Kristalle bestehen aus Cholinperjodid. - Nachdem wir uns von der Phosphat- und Cholinfreiheit unseres Enzympräparates überzeugt hatten, wurden dem Präparat 10 Gewichtsteile Wasser hinzugegeben und nach erfolgter Lösung soviel gesättigtes neutrales Bleiazetat, bis die Niederschlagbildung aufhörte. Der Niederschlag wurde abzentrifugiert, gewaschen, und der ganze Prozeß wurde dreimal wiederholt. Der bleisalzhaltige Niederschlag wurde in Wasser suspendiert und, zur Entfernung des Bleisalzes, unter stetem Schütteln mit Schwefelwasserstoff behandelt. Das Bleisulfid wurde abzentrifugiert, das Filtrat zunächst bei Zimmertemperatur, dann in Vakuum bei 32° C auf Sirupdicke eingedampft, schließlich im Exsikkator über konzentrierter Schwefelsäure, Ätzkali und Bleiazetat getrocknet.

Mit dem gereinigten Lecithase „B"-Präparat behandelten wir eine 2%ige wässerige Lecithinemulsion. Zur Förderung der Löslichkeit lösten wir zunächst das Phosphatid in einer womöglich minimalen Menge von Äthylalkohol und fügten das Wasser erst nachher hinzu. Nun wurde der größte Teil des Alkohols verdampft, mit Wasser versetzt und auf 100 ccm aufgefüllt. Diese Emulsion versetzten wir mit 100 ccm der phosphor- und cholinfreien Lecithase-„B". Mit 2 Tropfen Toluol wurde die Emulsion in einen auf 50° C eingestellten Brutschrank 20 Tage hindurch aufbewahrt. Während der Beobachtung hat sich die Emulsion in eine untere, fast vollkommen klare, durchsichtige, gelbe Lösung und einen oberen, halb geschmolzenen Teil getrennt. Der obere Teil, der ab-

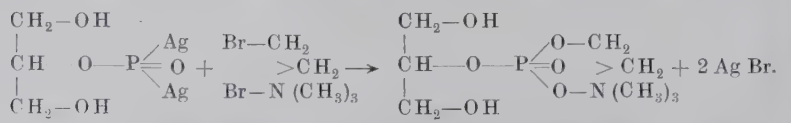
gespaltene Fettsäuren enthielt, klebte an der Gefäßwand. Der untere, wässerige Teil enthielt nach Filtration nur Spuren von Cholin und die Untersuchung auf „Glph." fiel negativ aus. Die Untersuchung auf „Glph." erfolgte in nachstehender Weise: Das Filtrat der Emulsion wird mit Ammoniak schwach alkalisiert und mit Calciumchlorid versetzt. Hierauf entsteht ein massenhafter gallertiger Niederschlag. Wird von diesem Niederschlag die Flüssigkeit dekantiert und erwärmt, so entsteht in der Anwesenheit von „Glph." ein weiterer weißer Niederschlag, der nach Abkühlung sich wieder auflöst. Eine andere qualitative Prüfung: Die „Glph." ergibt nach Behandlung mit Ammoniummolybdat und längerer Erwärmung einen gelben Niederschlag.

Mit diesem freies Cholin und freie „Glph.", ferner Lecithinfettsäuren nicht enthaltenden, auf fermentativem Wege gewonnenem „Glphch." haben wir einen Teil unserer Tierversuche ausgeführt.

Da aber dieser fettsäurefreie Anteil des Lecithinmoleküls noch immer nicht genug frei von Verunreinigungen war, tauchte die Notwendigkeit auf, einen synthetischen „Glphch." herzustellen, dessen Reinheit über jeden Zweifel steht.

Herstellung von glycerinphosphorsaurem Cholinester auf synthetischem Wege.

Diese Synthese wurde zum ersten Male von Arnold Herbert (1940) ausgeführt. Von seiner diesbezüglichen Arbeit aber nahmen wir erst in einem vorgerückten Stadium unserer Bemühungen Kenntnis. Arnold

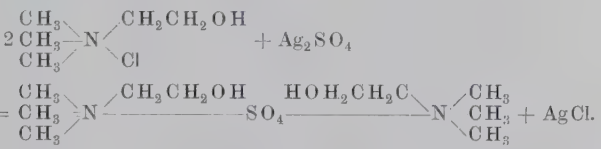


hat das Doppelsilbersalz der β-„Glph." mit Trimethyl-bromäthyl-ammoniumbromid in heißem Alkohol zusammengebracht. So entstand das Endosalz des β-„Glphch"s. Die Kristallisierung der Substanz wurde aus der Lösung in absolutem Alkohol nach Zusatz von wenig trockenem Äther durchgeführt. Die gewonnenen farblosen, radiär gelegenen Kristalle schmolzen nach sorgfältiger Trocknung bei 104—105° C. Die chemischen und physikalischen Eigenschaften der kristallinischen Substanz erfuhren selbst nach längerem Aufbewahren bei 100° C in starkem Vakuum keine Änderung.

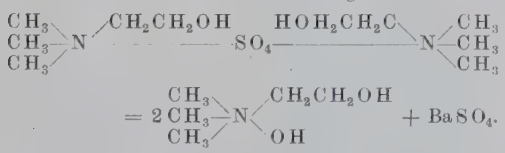
Unsere Synthese verlief wie folgt: Wir gingen von Cholinchlorid aus, dem wir eine berechnete Menge von Silbersulfat hinzugaben. Das Gemisch wurde 1 Stunde lang in dunklem Zimmer stehengelassen und nachher filtriert, um das Silberchlorid vom Cholinsulfat zu trennen. Wir untersuchten das Filtrat auf Silber- und Chlorionen, mit negativem Ergebnis. Nun versetzten wir das $(Cholin)_2$-Sulfat, zur Entfernung der Sulfationen, mit einer äquivalenten Menge von Bariumhydroxyd. Nach 15—20 Minuten Stehen wurde das Bariumsulfat durch Filtrieren entfernt und das cholin-

haltige Filtrat auf Silber, Chlor, Barium und Sulfationen geprüft. Die Proben fielen negativ aus. Jetzt wurde dem Cholin die äquivalente Menge von β-„Glph." hinzugefügt und die Mischung über einem Wasserbad 36 Stunden lang bei Rückflußkühlung gekocht, wobei von Zeit zu Zeit die oben beschriebene qualitative Prüfung auf „Glph." angestellt wurde. Nach 30 Stunden Kochen fiel die Probe negativ aus, dagegen erhielten wir nach Abkühlung wieder eine schwach positive Reaktion; die nach 36 Stunden entnommene Probe blieb aber nach Abkühlung und selbst nach längerem Stehen negativ. So erhielten wir mit diesem Verfahren aus 1 g Cholinchlorid 1,8809 g „Glphch.", dessen Schmelzpunkt zwischen 104 und 105° C festgestellt werden konnte (Tabelle 1).

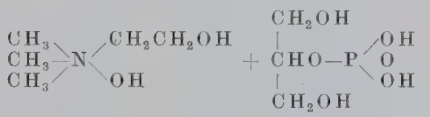
Tabelle 1.

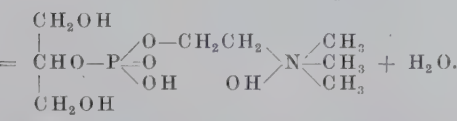


Filtration: $AgCl \rightarrow$



Filtration: $BaSO_4 \cdot$ -





279,18 g Cholinchlorid + 311,83 g Silbersulfat
= 305,33 g Cholinsulfat + 286,68 g Silberchlorid.

305,33 g Cholinsulfat + 315,5 g Bariumhydroxyd · 8 H_2O
= 242,26 g Cholin + 233,5 g Bariumsulfat + 144 g H_2O.

121,13 g Cholin + 171,1 g β-Glycerinphosphorsäure
= 274,23 g β-Glycerinphosphorsäurecholinester + 18 g H_2O.

1 g Cholinchlorid + 1,1169 g Silbersulfat
= 1,0936 g Cholinsulfat + 1,0268 g Silberchlorid.

1,0936 g Cholinsulfat · 1,13 g Bariumhydroxyd · 8 H_2O
= 0,8677 g Cholin + 0,8362 g Bariumsulfat + 0,516 g H_2O.

0,8677 g Cholin + 1,2259 g β-Glycerinphosphorsäure
1,8809 g β-Glycerin-phosphorsäurecholinester + 0,1289 g H_2O.

Das gewonnene Präparat reagierte auf Cholin – nach Florence – negativ. Auch die qualitative Probe auf „Glph." lieferte negative Ergebnisse.

Untersuchung des fermentativ gewonnenen und des synthetischen Cholinesters im Hinblick auf ihre Wirksamkeit in Katzenversuchen.

Methodik.

Die Blutdruckversuche wurden an Katzen in Chloralosenarkose angestellt. Außer dem mittels einer Carotiskanüle registrierten Blutdruck wurden auch die Darmbewegungen mit der Ballonmethode aufgezeichnet. Von 12 Katzenversuchen werden unten die Ergebnisse von 8 angeführt.

Versuchsergebnisse.

Katze Nr. 10: 2500 g (Abb. I). Zunächst je ein Normalversuch mit 0,5 γ Adrenalin (1) und 0,1 γ Azetylcholin (2), welche im Blutdruck 20 mm Steigerung bzw. 40 mm Senkung verursachten. Der synthetische „Glphch." (4—7) rief in den Mengen von 1,0 γ, 10 γ, 1 mg und 10 mg eine verhältnismäßig unbedeutende Blutdrucksenkung hervor (Abb. II). Die Blutdrucksenkung war nach 10 mg „Glphch." geringer als nach 0,1 γ Azetylcholin, mithin war seine Wirkung mehr als 100000mal schwächer als die des Azetylcholins. Bezüglich Wirksamkeit steht der „Glphch." dem Cholinchlorid nahe (Abb. III, 11). Dennoch ist die Wirkung der zwei Verbindungen nicht identisch, da 10 mg „Glphch." (7) eine mäßige Blutdrucksenkung herbeiführten (23 mm), während die Wirkung von 10 mg Cholinchlorid nach einer geringen anfänglichen Senkung (10 mm) sich in einer mächtigen Steigerung des Blutdruckes (45 mm) äußerte (12), das Präparat wies also eine sogenannte Nikotinwirkung auf.

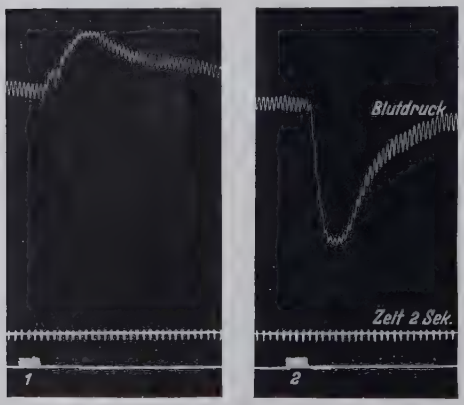


Abb. I. Katze Nr. 10.
1. Adrenalin 0,5 γ. 2. Azetylcholin 0,1 γ.

5 mg des auf fermentativem Wege gewonnenen „Glphch.s" erzielte einen etwas geringeren Blutdruckabfall, als dieselbe Menge des synthetischen Präparates (Abb. IV, 20, 21). Nach diesem Versuch ist es besonders aufgefallen, daß das Cholinchlorid in einer Menge von 10 mg selbst ohne

vorherige Atropindarreichung nach einem vorübergehenden und geringfügigen Abfall eine beträchtliche Erhöhung des Blutdruckes (38 mm) veranlaßte (Abb. IV, 18). Gleichzeitig mit der Blutdruckerhöhung flachte die Kurve der Darmbewegungen ab. Wird von dem fermentativ hergestellten und dem synthetischen Cholinchlorid die gleiche Menge (5 mg)

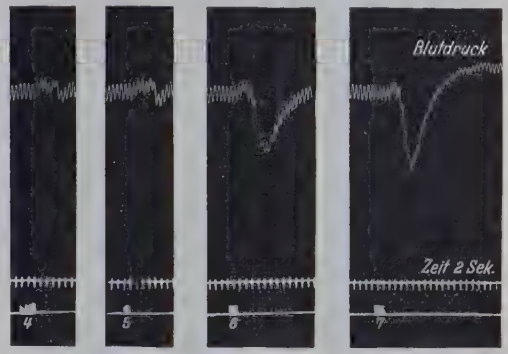


Abb. II. Katze Nr. 10. Synthet. glycerinphosphorsaures Cholinester: 4. 1,0 γ. 5. 10,0 γ. 6. 1 mg. 7. 10 mg.

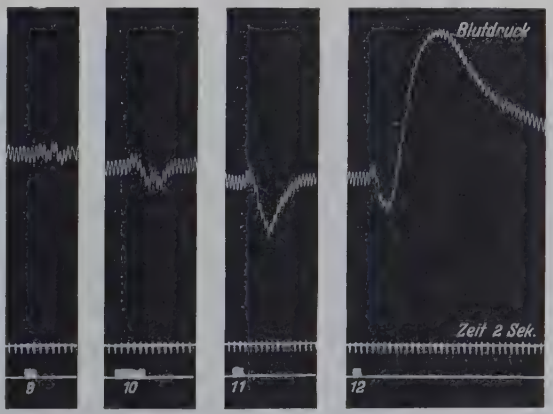


Abb. III. Katze Nr. 10.
Cholinchlorid: 9. 1 γ. 10. 10 γ. 11. 1 mg. 12. 10 mg.

nacheinander verabreicht, so ist der Blutdruckabfall mäßig (10—12 mm) und gleich groß. Beide Stoffe veranlassen eine lebhafte Peristaltik.

Nach Nebennierenentfernung verlaufen die Versuche mit Adrenalin, Azetylcholin und Cholinchlorid beinahe unverändert (Abb. V, 1, 2, 6, 7). Nach 10 mg Cholinchlorid erfolgt gleichfalls die umgekehrte Re-

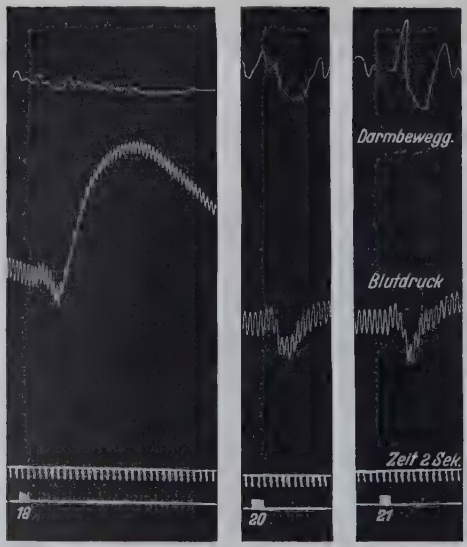


Abb. IV. Katze Nr. 10. 18. Cholinchlorid 10 mg.
20. Enzymat. „Glphch." 5 mg. 21. Synthet. „Glphch." 5 mg.

Abb. V. Katze Nr. 10.
1. Adrenalin 0,5 γ. 2. Azetylcholin 0,1 γ. 6. Cholinchlorid 1 mg. 7. Cholinchlorid 10 mg

aktion, d. h. starke Blutdrucksteigerung mit Abnahme des Darmtonus und der Peristaltik. Auch die Wirkung der auf verschiedenen Wegen

Abb. VI. Katze Nr. 10. 13. Synthet. „Glphch." 5 mg. 18. Enzymat. „Glphch." 5 mg. 20. Synthet. „Glphch." 5 mg.

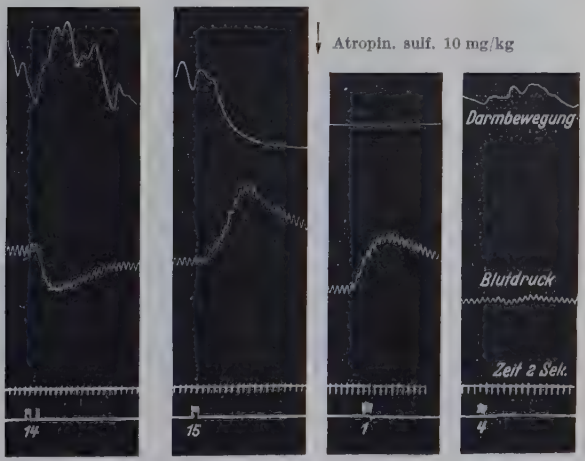


Abb. VII. Katze Nr. 7. 14. Azetylcholin 0,1 γ. 15. Adrenalin 0,5 γ. 1. Adrenalin 0,5 γ. 4. Azetylcholin 10 γ.

gewonnenen Cholinester blieb nach Verabreichung von gleichen Mengen (je 5 mg) identisch (Abb. VI, 13, 18, 20).

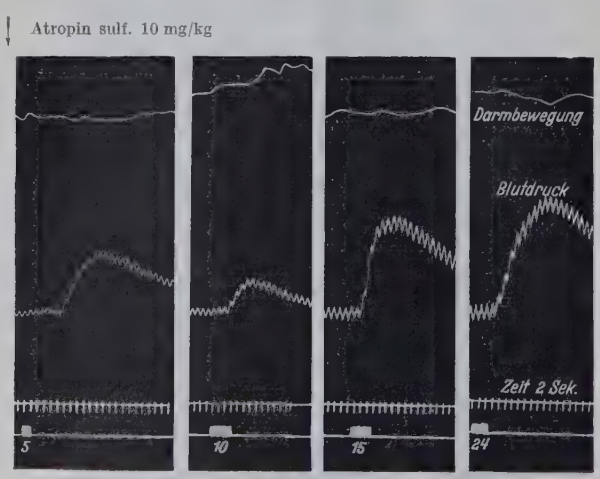


Abb. VIII. Katze Nr. 7. 5. Azetylcholin 1 mg. 10. Synthet. „Glphch." 5 mg. 15. Cholinchlorid 10 mg. 24. Adrenalin 0,5 γ.

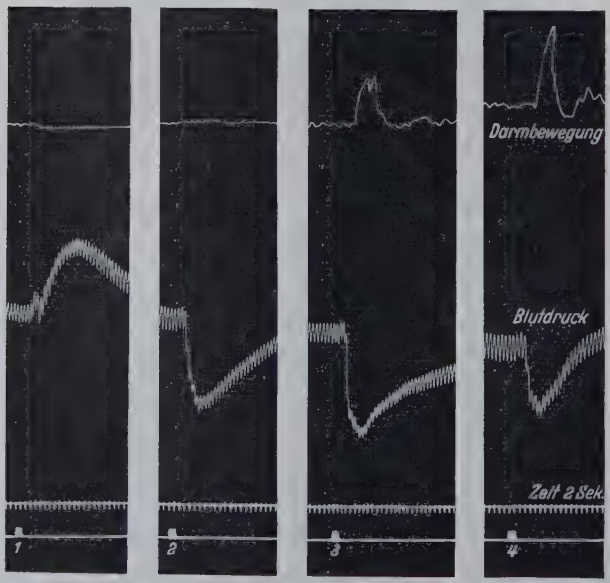


Abb. IX. Katze Nr. 12. 1. Adrenalin 0,5 γ. 2. Azetylcholin 0,1 γ. 3. Cholinchlorid 10 mg. 4. Synthet. „Glphch." 5 mg.

Die beobachteten Erscheinungen wurden unter Atropinwirkung weiter studiert (Katze Nr. 7). Nach Erprobung der Wirkung von 0,1 γ

Azetylcholin (Abb. VII, 14) und 0,5 γ Adrenalin (15) wurden der Katze 10 mg pro kg Gewicht Atropinum sulf. verabreicht. Nachher änderte sich die Adrenalinwirkung kaum (Abb. VII, 1), eine Blutdrucksenkung wurde aber selbst von 10 γ Azetylcholin nicht hervorgerufen (Abb. VII, 4). die aufgehobene Peristaltik wurde hingegen wieder lebhaft. 1 mg Azetylcholin verursachte eine „umgekehrte" Reaktion, indem der Blutdruck um 17 mm anstieg und die vorher belebte Peristaltik abzuflachen begann (Abb. VIII, 5). 5 mg des synthetischen „Glphch."s führte gleichfalls eine leichte Blutdrucksteigerung (10 mm) herbei (Abb. VIII, 10). Diese Nikotinwirkung wurde nach 10 mg Cholinchlorid mehr ausgeprägt (Abb. VIII, 15). Die anfänglich erprobte Adrenalindosis (0,5 γ) brachte eine wesentlich größere (35 mm) Blutdrucksteigerung zustande (Abb. VIII, 24) als zu Beginn der Versuche (Abb. VII, 15), als nur 20 mm Steigerung zu beobachten war.

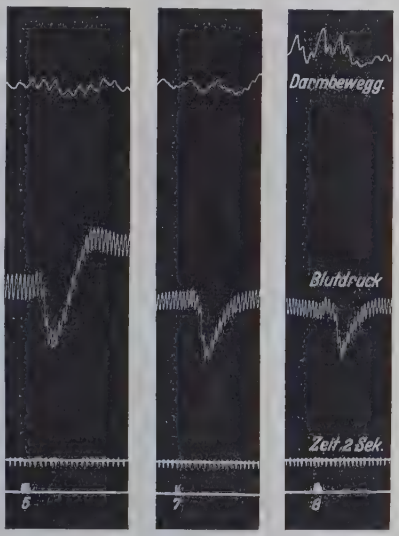


Abb. X. Katze Nr. 12. 6. Enzymat. „Glphch." 5 mg. 7. Frisches Lecithin 10 mg. 8. Lecithin (20 Tage lang bei 50° C gehalten) 10 mg.

Jetzt wurde die Wirkung der zweierlei Cholinester mit der von frischem Lecithin verglichen, ferner mit der eines Lecithins, welches 20 Tage bei 50° C gehalten wurde, also ebenso lang wie das fermentativ abgebaute Lecithin. Zu diesen Versuchen wurde die Katze Nr. 12 herangezogen. Nach Bestimmung der Empfindlichkeit für Adrenalin (0,5 γ), Azetylcholin (0,1 γ), Cholinchlorid (10 mg), rief die verabreichte hohe Dosis (5 mg) von synthetischem „Glphch." eine mäßige Blutdrucksenkung (18 mm) hervor (Abb. IX, 1, 2, 3, 4). Sowohl Cholinchlorid, wie auch der synthetische Ester (3 bzw. 4) lösten starke Darmzusammenziehungen aus. Somit war die vom synthetischen „Glphch." veranlaßte Blutdrucksenkung ungefähr so groß (17 mm), wie nach der gleichen Dosis des fermentativ erhaltenen Esters (Abb. X, 5). Unter der Wirkung des letzteren war aber die Reaktion von diphasischem Charakter, der Nikotinreaktion ähnlich. Zugleich lösten 10 mg des aus dem Handel frisch bezogenen und verwendeten Lecithins (Abb. X, 7) sowie die gleiche Dosis des 20 Tage bei 50° C aufbewahrten Lecithins (Abb. X, 8) eine ebenso große Blutdrucksenkung aus (17 mm).

Nach Atropin (10 mg Atr. sulf. pro kg Körpergewicht) ließ sich die Adrenalinreaktion (0,5 γ) gut auslösen (Abb. XI, 9), hingegen wurde die

Azetylcholinreaktion (1 mg) ausgesprochen biphasisch (Abb. XI, 13). 10 mg Cholinchlorid lieferte eine umgekehrte Reaktion, indem der Blutdruck anstieg. Weder das 20 Tage bei 50° C gehaltene Lecithin, noch die frisch verwendete Ware konnte, in ähnlichen Mengen verabfolgt, den Blutdruck ändern (Abb. XI, 16). Darauffolgend erhielten wir nach 5 mg des synthetischen Esters eine umgekehrte Reaktion, die gleiche Dosis des fermentativ hergestellten Esters aber rief trotz der Atropinbehandlung eine milde, doch merkbare Blutdrucksenkung hervor.

Im weiteren wurde die Wirkung der Dekapitation untersucht. Nach Feststellung der Empfindlichkeit für Azetylcholin (0,1 γ), den synthetischen

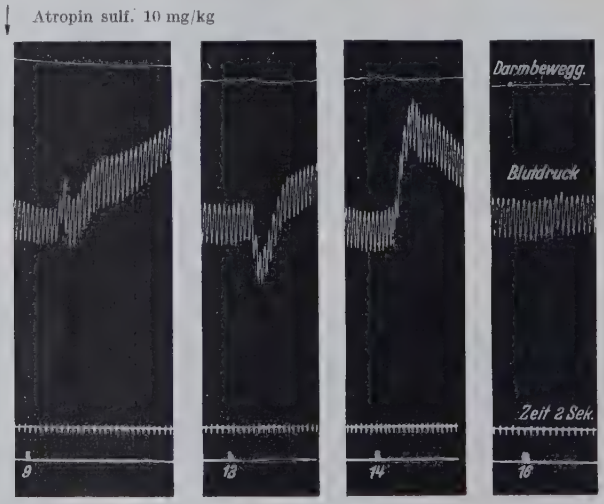


Abb. XI. Katze Nr. 12. 9. Adrenalin 0,5 γ. 13. Azetylcholin 1 mg. 14. Cholinchlorid 10 mg. 16. Lecithin (20 Tage bei 50° C gehalten) 10 mg.

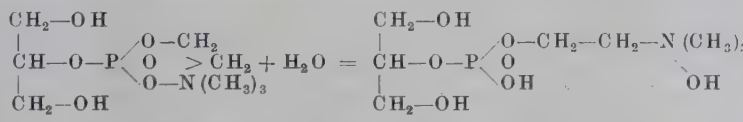
Ester (5 mg) und Cholinchlorid (10 mg) wurde das Tier dekapitiert und den gleichen Versuchen, wie im Vorversuch, unterzogen. Das Cholinchlorid veranlaßte eine leichte Erhöhung des allgemeinen Blutdruckniveaus, sonst wurde eine Änderung im Verlauf der Blutdruckkurve von keinem der drei Mittel verursacht. Zugleich wirkten alle drei Stoffe auf die Darmbewegungen fördernd ein.

Besprechung der Ergebnisse.

Arnold schreibt über die pharmakologische Wirkung des von ihm hergestellten „Glphch".s wie folgt (die Versuche wurden in Höchst a. M. an der chemisch-pharmakologischen und der serobakteriologischen Abteilung der I. G. Farbenindustrie A.-G. vorgenommen): „Das Präparat zeigt am Froschherzen und Katzenblutdruck eine ungefähr 1000fach schwächere

Wirksamkeit als das Azetylcholin; seine Wirksamkeit entspricht ungefähr dem des freien Cholins". Wir machten dieselbe Feststellung in unseren Katzenblutdruckversuchen und auch den hier nicht zu besprechenden Froschherzversuchen. Auch Belfanti und Cuboni bringen hierüber in ihrer Monographie eine kurze Bemerkung: der von ihnen aus Lecithin auf fermentativem Wege hergestellte „Glphch." besitze eine „beachtenswerte" blutdruckherabsetzende Eigenschaft.

Die Wirkung des synthetischen Präparates wurde auch von v. Muralt an Blutegeln geprüft. Er fand, daß das Präparat in einer Verdünnung $1 : 10^{-5}$ ebenso wirke, wie das Azetylcholin in einer Verdünnung von $1 : 10^{-8}$. Daß diese Wirkung durch 2 Minuten Kochen bei 100° C auf das 3—4fache erhöht werden kann, wurde ebenfalls von ihm beobachtet. Nach weiterem Kochen (15—30 Minuten) büße aber das Mittel diese Wirkung schnell ein. Arnold nimmt an, daß die anfängliche Aktivierung mit einem Übergang des Endo-Salzes (I) in die hydratierte Form (II) zusammenhänge. Gegen Alkalisierung verhält sich die pharmakologische Wirkung des Esters ziemlich resistent:



I. Endo-Salz. II. Hydratierte Form.

Arnold wirft die Frage auf, ob die Wirkung des „Glphch.s" durch Azetylierung erhöht werden kann.

Da die pharmakologische Wirkung des freien Cholins und des cholinfreien „Glphch.s" annähernd identisch sind, ist die Annahme berechtigt, daß der dem Organismus parenteral zugeführte synthetische „Glphch." im Körper rasch zersetzt wird und die charakteristische Blutdrucksenkung dem aus dem Ester freiwerdenden Cholin zuzuschreiben ist.

Zusammenfassung.

1. Glycerinphosphorsaurer Cholinester wurde einerseits aus Lecithin nach der Methode von A. Contardi und A. Ercoli mittels des Fermentes Lecithase „B", andererseits synthetisch mit einem eigenen Verfahren hergestellt.

2. Cholinchlorid bildet mit Silbersulfat Cholinsulfat. Nach Entfernung des Silberchloridniederschlages durch Filtration und Zersetzung des im Filtrat befindlichen Cholinsulfates durch die äquivalente Menge von Bariumhydroxyd entstehen Cholin und Bariumsulfat, von denen das Bariumsalz sich durch Filtrierung entfernen läßt. Im Filtrat fallen die qualitativen Proben auf Silber-, Chlor-, Barium- und Sulfationen negativ aus. Das im Filtrat vorhandene Cholin bringt man mit dem Äquivalentgewicht von Glycerinphosphorsäure zusammen; nach 36 Stunden Kochen

bei Rückflußkühlung entsteht der β-„Glphch.". Der so gewonnene Cholinester der β-Glycerinphosphorsäure schmiltz bei 104—105° C, enthält weder freies Cholin, noch freie „Glph.", welche nach Alkalisierung mit Ammoniumhydroxyd nachweisbar wäre.

3. Die Wirkung des Esters wurde am Verhalten des Blutdruckes von Katzen, an den Darmbewegungen von Katzen (beide in Chloralosenarkose) und in Froschherzversuchen untersucht.

Die Wirkung der zweierlei hergestellten Ester war annähernd identisch und entsprach ungefähr der Wirkung des freien Cholins, obwohl die vorher vorgenommene Florence-Probe mit beiden Estern negativ ausfiel. Während große Dosen von Cholinchlorid (10 mg) ohne eine Vorbehandlung mit Atropin die sogenannte Nikotinwirkung aufwiesen, ließ sich diese Erscheinung unter der Wirkung keines der Ester beobachten. Ihre Wirkung blieb auch nach Nebennierenentfernung unverändert. Nach Atropinbehandlung rief auch der synthetische Ester eine milde umgekehrte Reaktion vor. Nach Dekapitation wurde der Blutdruck von keinem der Ester gesenkt. Die Darmbewegungen wurden durch beide Esterarten lebhafter, der Darmtonus nahm zu.

Verfasser nehmen an, daß der Ester nach seinem Eintritt in den Organismus durch Cholinphosphatase zerlegt wird. Auf diese Weise entsteht freies Cholin, dessen pharmakologische Wirkung zur Geltung kommt.

Literatur.

1) Arnoldt, Herbert: Ber. dtsch. chem. Ges., Jhrg. LXXIII, S. 87 (1940). — 2) Belfanti u. Cuboni: Boll. Leg. Ital. lotta contro il cancro **3**, 127 (1935). Zitiert nach Ergeb. d. Enzymforsch. V, S. 228 u. 331 (1936). — 3) Beznák u. Chain: Quart. J. exper. Physiol. **26**, 201 (1937). — 4) Bókay, Á.: Z. physiol. Chem. **1**, 157 (1877). — 5) Contardi, A., u. A. Ercoli: Biochem. Z. **261**, 275—302 (1933). — 6) Die Methoden der Fermentforschung. Lieferung 5, S. 1685 (1940). — 7) Eichler, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 576 (1939). — 8) Ergebnisse der Enzymforschung, Bd. V, S. 213—232 (1936). — 9) Guggenheim: „Die biogenen Amine", Basel, New York, Verlag von C. Karger, 1940. — 10) Jeney, A. v., J. Méhes: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **179**, H. 3, 403 (1935). — 11) Lévy: Chem. Zbl. II, 1755 (1936). — 12) Lévy: C. r. Acad. Sci. **202**, 2186 (1936). — 13) Lunge-Berl: Chemisch-technische Untersuchungsmethoden, 7. Auflage, Bd. III, S. 1118. — 14) Meyer, P.: Biochem. Z. **1**, 39 (1936). — 15) Outhouse, E.: Biochem. J. (Brit.) **30**, 197 (1936); **31**, 1459 (1937). — 16) Smyth, D.: Ebenda **29**, 2067 (1935).

Aus dem Hygiene-Institut der Universität Rostock.
(Direktor: Prof. Dr. Werner Kollath.)

Wachstum und Zellersatz in der Vitaminforschung.

XVI. Mitteilung: Rachitis, Prärachitis und ihre Ursachen.

Von

Werner Kollath,

unter Mitarbeit von

Johannes Garbe, Eva-Dora Schröder, Gustav Schunk und **Emmy Thierfelder.**

Mit 19 Textabbildungen.

(Eingegangen am 7. Januar 1942.)

In der VIII. und IX. Mitteilung dieser Arbeitenreihe wurden (1933) Versuche beschrieben, in denen ich eine Analyse der Rachitisentstehung auf Grund der gestörten Wachstumsprozesse versuchte. Es konnte damals gezeigt werden, daß die „Rachitis" nicht nur als Folge des Vitamin D-Mangels zu betrachten war, sondern eine wesentlich kompliziertere Ursache haben müsse. Vor allem mußte zur Erklärung der histologischen Veränderungen die klassische Arbeit von Erdheim über „Rachitis und Epithelkörperchen" berücksichtigt werden. In dieser war (S. 464) gezeigt, daß Rachitis „Wachstum" voraussetzt, daß dieses Wachstum aber aus zwei einander entgegengesetzten Prozessen entsteht: einer in Vergleich zur Norm gesunkenen Produktion, und einer in Vergleich zur Produktion noch stärker gesunkenen vaskulären und zellulären Resorption. Die für den rachitischen Zustand kennzeichnende „Verlängerung der Knorpelsäulenschicht", wie sie z. B. auch als Ursache der Epiphysenveränderungen im Röntgenbild erkennbar ist, erweist sich in erster Linie als Folge der stark gesunkenen Resorption. Obwohl der Nachschub schwach ist, über. wiegt er doch die Resorption und es kommt zu einem schleppenden, unvollkommenen Wachstum. Der rachitische Knochen wird plump und dick.

Ich konnte in jenen Arbeiten auch zeigen, daß diese gesunkene Resorption eine enge Parallele mit einer „Stoffwechselschwäche" oder einer „gesunkenen Gewebsatmung" aufwies, wie sie z. B. auch in der Geschichte der Wirbeltiere gelegentlich bei Sauriern beobachtet wurde, die vom Land- zum Wasserleben übergingen und nun einerseits eine verminderte Gewebsatmung erfuhren, andererseits eine einseitigere Mineralkost zu sich nehmen konnten. Dabei entstand ein feinmaschiges Knochenwerk, das sich experimentell dadurch erzeugen ließ, daß phosphorreiche, aber kalkarme Kost gegeben wurde. Diese führte, wie in den Versuchen von Stoelzner und Salge, in denen Hunde mit Fleisch-Fett gefüttert wurden, wobei „Pseudorachitis" entstand, zu genau den gleichen Knochen-

strukturen bei Ratten. Da das Knochenmark bei diesen Ratten eine fibroide Struktur aufwies, nannte ich dies „pseudorachitische" Bild „fibroide Malazie". Die echte Rachitis hingegen entsteht auf der gleichen Grundlage des abgeschwächten Atmungsvorganges, erfährt aber eine andere Stufe der Knochenbildung: es entsteht „Osteoid". Und diese entwicklungsgeschichtlich frühere Bildung hat zur Voraussetzung die Abwesenheit bzw. Einschränkung des Phosphors bei Kalkreichtum. Es fehlt die Bildung der Knochenkittsubstanz, ohne die kein „der Verkalkung fähiger Knochen" entstehen kann.

Nun findet man ein derartig fibroides Bild beim Menschen in dieser reinen Form praktisch niemals, sondern nur das „osteoide" rachitische Bild. Das liegt nicht daran, daß der Mensch etwa nicht derartig reagieren könnte *, sondern daran, daß seine Lebens- und Ernährungsgewohnheiten von selbst aus dazu neigen, daß die Ursachen der osteoiden Bildung weit leichter eintreten, als die der fibroiden. Künstlich könnte man das abnorme Bild durchaus hervorrufen.

Diese beiden abnormen Knochenbildungen wurden somit als Rückfall in entwicklungsgeschichtliche Vorstufen betrachtet, eine Erklärungsform des Krankhaften, die sich im Bereich der Mangelkrankheiten bisher noch nicht durchgesetzt hat. Nachdem aber nun weitere 10 Jahre ins Land gegangen sind und zahlreichere neuere Erkenntnisse hinzukamen, schien es mir an der Zeit, diese alten Beobachtungen mit neuen Mitteln nachzuprüfen.

Zunächst bestimmte mich dazu, daß es nicht gelungen ist, die Rachitis allein durch Fehlen von Vitamin D zu erklären. Das ist in einer allgemeinen Studie zu diesem Fragenkomplex eingehend dargelegt worden (s. Klin. Wschr., z. Z. im Druck).

Sodann aber konnte ich in meinen eigenen Arbeiten zeigen, daß es durchaus möglich ist, daß das Leben besteht, wenn auch die Stoffwechselprozesse an der unteren Grenze der Norm verlaufen (XIV. Mitteilung). Diese, als Mesotrophie bezeichnete unterste Lebensmöglichkeit tritt ein, wenn Vitamin B_1 und Kalium anwesend sind. Alle anderen Vitamine und Mineralien können dabei fehlen. Sie werden nur wirksam, wenn die früher als HG-Faktoren, jetzt als „hitzestabilere Wuchsstoffe" bzw. Vermehrungsstoffe ** bezeichneten Substanzen in der Kost vorhanden sind.

Da nun Wachstum eintreten kann, wenn diese Wuchsstoffe in der Kost vorhanden sind, bestand eine weitere enge Beziehung zur Rachitisentstehung. Ich hatte vielfach zeigen können, daß z. B. ohne Wuchsstoffe Vitamin D unwirksam bleibt.

Man mußte nun die bekannten Rachitisdiäten auf Wuchsstoffanwesenheit prüfen. Man mußte erwägen, ob die Wuchsstoffe in ähnlicher Weise,

* In der „Osteodystrophia fibrosa" haben wir eine ähnliche Bildung.

** Es wäre vielleicht zweckmäßig, die tierischen Vermehrungsstoffe als „Auxone" zu bezeichnen, während die pflanzlichen die von Kögl eingeführte Bezeichnung „Auxine" beibehalten. Verwandtschaft und Verschiedenheit werden dadurch betont.

wie in der VII. Mitteilung beschrieben, auch bei Rachitis von der Geburt her gespeichert sein können und — gewissermaßen als deux ex machina — wirken. Man mußte diese Fragen in Beziehung zu den Mineralkorrelationen bringen. Kurz, es ergaben sich zahlreiche Aufgaben, aus denen das Gesamtproblem der Rachitis in umfassenderer Weise angegangen werden konnte, als mit der isolierten Vorstellung, Fehlen eines „antirachitischen Faktors" führe zu Rachitis. Das widerspricht der Fülle der sonst bekannten Begleitumstände.

In einer einführenden, in der Klin. Wschr. veröffentlichten Arbeit habe ich gezeigt, daß alle bekannt gewordenen Tatsachen den Gedanken erlauben, daß vor dem eigentlichen Werden der osteoiden rachitischen Säume ein unspezifischer Zustand das Werden der Rachitis überhaupt erst begünstigt. Für diesen näher zu erforschenden Zustand wurde die Bezeichnung „Prärachitis" geprägt. Es wurde dabei auch gezeigt, daß jugendliche Ratten eine ihnen eigene Disposition zur Rachitisentstehung haben, und daß diese bei älteren Ratten nicht mehr vorliegt. Vergleichende Untersuchungen zwischen älteren und jüngeren Ratten bei Verfütterung der sogenannten Rachitiskosten waren dazu notwendig.

Es gab also eine ganze Anzahl von Möglichkeiten, die neuen Gesichtspunkte zur Erforschung des Gesamtbildes „Rachitis" experimentell zu erproben. Über den ersten Teil dieser Versuche soll hier berichtet werden. Das vorschwebende Ziel heißt, eine wirkliche synthetische Kost zu finden, damit diejenigen Unsicherheitskomponenten, die den bisherigen Kostformen anhaften, beseitigt werden. Denn, die bisherige am meisten benutzte Rachitiskost ist nur geeignet, das Vitamin D zu standardisieren, aber nicht, das Gesamtbild Rachitis aufzuklären.

Methodik.

1. Zum Studium der oben besprochenen Fragen gingen wir davon aus, verschiedene bekannte Rachitisdiäten erstens untereinander zu vergleichen und sie zweitens zu modifizieren.

a) Mc Collum 3143 (nach Bomskov: Meth. d. Vitaminforsch. **1935**, S. 89):

Weizengrieß	33	Teile
Maisgrieß	33	„
Weizenkleber	15	„
Gelatine	15	„
Kochsalz	1	„
$CaCO_3$	3	„

Der Weizenkleber wird 12 Stunden mit 96%igem Alkohol extrahiert. Pro Tier und Tag werden anfangs je 5 g, später bis zu 15 g der fertigen Diät gegeben, so daß stets ein Überschuß bleibt.

In dem Versuch 72 wurden folgende Veränderungen getroffen:

Statt Weizengrieß und Maisgrieß (Maizena), Weizenkörner und Maiskörner; statt Weizenkleber gereinigtes Casein. Gelatine wurde auf 18 Teile erhöht.

b) Sherman-Pappenheim 84:

Weizenmehl	95	Teile
NaCl	2	„
Ca-lact.	2,9	„
Fe-citr.	0,1	„

2. Die Diäten wurden bei jungen und älteren Ratten gegeben.

3. Zur Original-Mc Collum-Kost wurden Zulagen gegeben: ein Kalkgemisch aus 28% Ca-citr. und 2% Ca-glycerinophosphor. Dasselbe plus Vigantol, ferner ein Kombinationspräparat, Calcipot D, das wegen seines Hefegehalts gewählt wurde. Demnach ließ es 1. Wuchsstoffwirkungen erwarten, 2. Mitwirkungen des B-Komplexes. (Calcipot D besteht nach Angaben der Firma aus dem oben angegebenen Kalkgemisch, Zusatz von bestrahlter Hefe, die in 1,8 g 3600 biol. Vitamin D-Einheiten enthält, ferner als Geschmackskorrigentien Zucker und Kakao. Dies Kombinationspräparat soll sich nach de Rudder, Diener, Gierthmühlen, Techentin, Groetschel, Winkler und Dressen prophylaktisch gut bewährt haben. Es schien uns deshalb als Vergleichsobjekt zum isolierten Vitamin D im Vigantol sehr geeignet.

4. Testverfahren.

In Anbetracht des gänzlich anderen Zieles wurde auch ein anderes Testverfahren als das übliche benutzt. Gewählt wurde die histologische Untersuchung der Knorpelknochengrenze der Rippen, da ich aus den früheren Versuchen (VIII. und IX. Mitteilung) ersehen hatte, daß sie die feinsten Reaktionen erkennen ließen. Daneben wurden zum Vergleich die Kniegelenke geröntgt.

Eine Erschwerung trat dadurch ein, daß meine Arbeitsräume die Benutzung einer eigenen Rattenzucht nicht gestatteten. Infolgedessen wurde die Verwendung von Handelsratten erforderlich. Diese Unsicherheit mußte in Kauf genommen werden. Die Tiere entstammten aber einer einheitlichen Zucht.

Um nun die verschiedenen Entwicklungsstadien der zu erwartenden Veränderungen zu studieren, gingen wir so vor, daß die mit möglichst gleichem Gewicht eingesetzten Ratten in jeder Versuchsreihe in folgender Weise behandelt wurden:

In jede Reihe kamen 7 Ratten von möglichst gleichem Gewicht. Von diesen wurde jeden 4. Tag eine Ratte getötet, also am 4., 8., 12., 16., 20., 24. und 28. Tag. Die Untersuchung erfolgte nun so, daß von den toten Tieren die Kniegelenke herauspräpariert und reihenweise geröntgt wurden. Die Rippen aber wurden für die histologische Untersuchung vorbereitet. Entsprechend der in allen diesen Versuchsreihen dieser Arbeitenfolge geübten Technik wurden aus der Brustwand die Rippen 6—10 herausgeschnitten, so daß am Brustbein ein Einschnitt gemacht wurde, sodann ein etwa $1^1/_2$ cm-Querschnitt über die Knorpel-Knochengrenze geführt wurde und nun ein annähernd quadratförmiges Stück gewonnen wurde*.

Rippen und Knie wurden in 5%iges Formalin gelegt. Vor dem Einbetten kamen sie 4 Tage in Orthsches Gemisch. Hierauf erfolgte Entkalkung in 5%iger

* Kiefer und Zähne wurden an Herrn Prof. Euler, Zahnärztliches Institut der Universität Breslau, geschickt. Die Veröffentlichung dieser Befunde erfolgt gesondert.

Salpetersäure, durch Einhängen. Rippen verbleiben 45 Minuten, Knie 5 Stunden in der Entkalkungslösung; dann kommen sie 24 Stunden in Natriumsulfat, dann 24 Stunden in fließendes Wasser. Darauf kommen sie 24 Stunden in 12,5%ige Gelatine, dann 24 Stunden in 25%ige Gelatine. Aufbewahren in warmem Wasser (35—40° C), Abspülen und Aufbewahren in 5%igem Formalin. Knie werden in Gelatine 30 Minuten in den Eisschrank gestellt, dann auch in 5%iges Formalin gelegt. Vor dem Anfertigen der Gefrierschnitte wird kurz gewässert. Färbung Hämatoxylin-Eosin. Dicke der Schnitte 15—20 μ.

Versuch 70.

Die 1. Versuchsreihe mit der McCollum-Kost zerfiel in folgende Untergruppen:

1. Original (s. oben).
2. Zugabe von 3,6 mg Kalksalzgemisch täglich.
3. Zugabe von 3,6 mg Kalksalzgemisch und Vigantol (Handelsware, etwa 1 E).
4. Zugabe von Calcipot D 12 mg täglich.
5. Zugabe von $^1/_4$ g Weizenkeimen.
6. Zugabe von $^1/_4$ g Weizenkeimen und Calcipot D 12 mg täglich.

Alle Tiere wurden jeden 4. Tag gewogen. Teilweise erfuhren sie zuerst einen Gewichtsverlust, dann stiegen sie meist an. Die Gewichtszunahmen gegenüber dem Tiefpunkt sind in der Tabelle 1 zusammengefaßt.

Tabelle 1. Verhalten der Gewichtskurven.

Gruppe	4.	8.	12.	16.	20.	24.	28. Tag
Mc Collum Original	R 2853	2854	2855	2856	2857	2858	2859
	− 20	+ 4	+ 4	10	+ 11	+ 6	+ 16
Kalksalzgemisch	R 2932	2933	2934	2935	2936	2937	2938
	+ 3	+ 10	+ 5	0	0	+ 5	+ 10
Kalksalzgemisch und Vigantol	R 2925	2926	2927	2928	2929	2930	2931
	+ 3	+ 4	+ 8	0	+ 10	+ 9	+ 8
Calcipot D	R 2846	2847	2848	2849	2850	2851	2852
	0	− 6	+ 6	+ 7	+ 6	+ 8	+ 18
$^1/_4$ g Keime	R 2881	2882	2883	2884	2885	2886	2887
	− 10	+ 6	+ 10	+ 6	+ 5	+ 12	+ 14
$^1/_4$ g Keime Calcipot D	R 2874	2879	2875	2876	2877	2878	2880
	10	− 10	+ 14	+ 12	+ 11	− 10	+ 25

Es ergibt sich, daß die Zugabe des Kalksalzgemisches die niedrigste Gewichtszunahme zur Folge hat, die durch Zugabe von Vitamin D sogar noch erniedrigt wird (28. Tag). Am besten ist die Zunahme, wenn Calcipot D mit $^1/_4$ g Keimen zugegeben wird.

Die Röntgenbilder (Abb. 1), es sind die Aufnahmen vom 16.—28. Tag abgebildet, lassen nun erkennen, daß eine als Rachitis anzusprechende Verbreiterung der Epiphysenlinie sich in folgenden 4 Gruppen findet:

Abb. 1.

Tabelle 2. Das Verhalten der Röntgenbilder.

	4.	8.	12.	16.	20.	24.	28. Tag
1. Reihe	(−)	(−)	(−)	(−)	+	+	+
2. „	(+)	+	+	(+)	(+)	+	+
3. „	(− ?)	(− ?)	−	(−)	− ?	+	+
4. „	(−)	(−)	−	−	−	−	−
5. „	(−)	− ?	−	−	−	+	+
6. „	(−)	(−)	−	−	−	−	−

+ = rachitische Veränderungen.

Mc Collum-Kost ab 20. Tag,
„ und Kalkgemisch ab 4. Tag,
„ „ „ und Vigantol ab 24. Tag,
„ „ 1/4 g Weizenkeime ab 24. Tag.

Bei den beiden Calcipotreihen findet sich keine Rachitis.

In der Tabelle 2 sind die infolge zu geringer Gewichtszunahme nicht zu bewertenden Ratten eingeklammert, die als positiv erkennbaren mit + angegeben.

Es ist nun von Interesse, mit den Röntgenbefunden bei den Kniegelenken die histologischen Befunde bei den Rippen zu vergleichen. Aus Sparsamkeitsgründen muß von der Veröffentlichung sämtlicher Aufnahmen abgesehen werden. Statt dessen sind in der Tabelle 3 die Meßwerte zusammengefaßt, die die Brutkapselzone sowie die Säulenzone ergaben.

Zum Vergleich verweise ich auf Tabelle 2 in der VIII. Mitteilung (Bd. 170, S. 664).

Die eingeklammerten Werte bezeichnen die Ratten mit zu geringen Gewichtszunahmen. Man erkennt, daß die Wucherzone (Brutkapselzone) keine Werte aufweist, die einen Zusammenhang mit der fortschreitenden Rachitis erkennen lassen, daß hingegen die Tiefe der Säulenzone

Tabelle 3. Messung der Wachstumszonen in den Rippenknorpeln. (Werte in μ.)

	Wucherzone	Säulenzone	Trabekel		Wucherzone	Säulenzone	Trabekel
1. Mc Collum 3143 (Original)				4. Zugabe von Calcipot D.			
(2853)	(250)	(100)	(250)	(2846)	(315)	(250)	(150)
(2854)	(250)	(130)	(300)	(2847)	(335)	(200)	(215)
(2855)	(250)	(165)	(250)	2848	250	100	250
(2856)	(215)	(130)	(200)	2849	250	135	200
2857	250	585	350—700	2850	235	**100**	115
2858	250	500	100—150	2851	200	**85**	115
2859	250	750	500	2852	165	85	115
2. Mc Collum 3143 + 3,6 mg Kalkgemisch.				5. Zugabe von Weizenkeimen.			
(2932)	(415)	(165)	(380)	(2881)	(250)	(85)	(250)
2933	300	850	250	2882	165	250	165
2934	415	200	250	2883	335	250	165
(2935)	(300)	(350)	(100—150)	2884	250	250	250
(2936)	(350)	(250)	(400)	2885	165	250	165
2937	200	600	250	2886	250	585	335
2938	250	405	165	2887 *	250	585	335
3. Mc Collum 3143 + 3,6 mg Kalkgemisch + Vigantol.				6. Calcipot D + Weizenkeime.			
(2925)	(300)	(200)	(165)	(2374)	(165)	(65)	(165)
(2926)	(250)	(200)	(250)	(2879)	(165)	(65)	(200)
2927	500	165	250	2875	335	150	150
(2928)	(165)	(165)	(335)	2876	285	135	165
2929	**165**	250	165	2877	165	**85**	165
2930	335	335	165	2878	165	**100**	250
2931	250	250	250	2880 *	165	100	115
Norm!							
Diät X + $^1/_2$ g Hefe.				Diät X + 1 g Hefe.			
2888	415	65	250	2890	415	100	250
2889	250	85	250	2891	330	100	330

* Abb. 14 und 15.

ganz eindeutige Werte ergibt. Das stimmt genau mit den von Erdheim mitgeteilten Meßergebnissen überein. Man kann sagen:

Die Tiefe der Säulenschicht ist ein genauer Ausdruck der Schwere der rachitischen Veränderungen.

Man erkennt nun, daß in den einzelnen Gruppen recht interessante Werte der Säulenzone auftreten:

1. Originalkost: Fortschreitend nimmt vom 20. Tage ab die Zone bis 750 μ zu (Tafel 1, Abb. 2—13, 8., 20. und 24. Tag).

2. Bei Kalkgemisch-Zugabe findet sich der höchste Wert bereits bei 8 Tagen, so daß alle Ratten, trotz unzureichender Gewichtszunahme doch rachitische Werte zeigen.

3. Kalkgemisch mit Vigantol wirkt nun so, daß bis zum 16. Tage völlig normale Verhältnisse herrschen, dann aber tritt — verspätet —

Mc Collum 3143 Original.

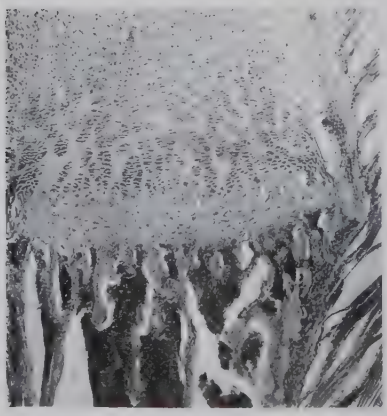


Abb. 2. Ratte 2854. 8. Tag.

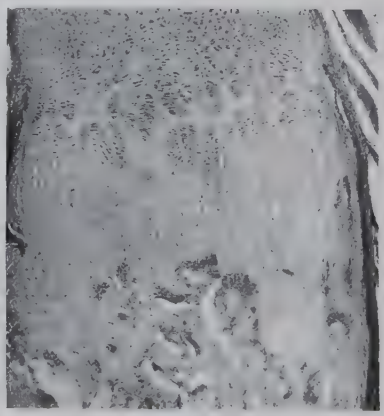


Abb. 3. Ratte 2857. 20. Tag.

Abb. 4. Ratte 2858. 24. Tag.

1. Reihe: Mc Collum-Kost, Original.

Ratte 2854 (Abb. 2): Normales Verhalten der Knorpelsäulen am 8. Tag.

Ratte 2857 (Abb. 3): Am 20. Tag findet sich eine ausgeprägte Vergrößerung der Säulenzone mit ausgedehnten Verwerfungen. unregelmäßigen Gefäßräumen.

Ratte 2858 (Abb. 4): Nach 24 Tagen ausgeprägte „Rachitis": Vergrößerung der Säulenzone, Auftreibung. Seitens des Knochens findet sich eine unregelmäßige Neubildung mit osteoiden Säumen.

2. Reihe: Mc Collum-Kost mit Zugabe von 3,6 mg Kalkgemisch täglich.

Ratte 2933 (Abb. 5): Bereits am 8. Tage findet sich typische „Rachitis", d. h. Vergrößerung der Knorpelsäulenzone und unregelmäßige Bildung am Mark.

Mc Collum 3143 + 3,6 mg Kalksalzgemisch.

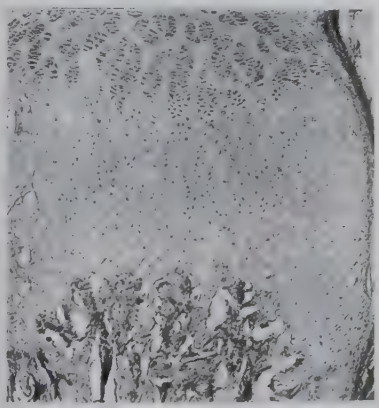


Abb. 5. Ratte 2933. 8. Tag.

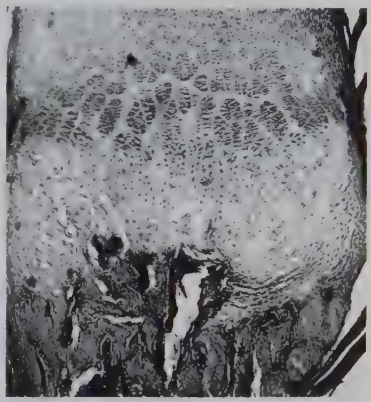


Abb. 6. Ratte 2936. 20. Tag.

Abb. 7. Ratte 2938. 28. Tag.

Ratte 2936 (Abb. 6) (20. Tag) und Ratte 2938 (Abb. 7) (28. Tag): typische Rachitis.

3. Reihe: Mc Collum-Kost, 3,6 mg Kalkgemisch und Vigantol (1,08 E.).

Ratte 2926 (Abb. 8): Es besteht am 8. Tag noch normales Verhalten.

Mc Collum 3143 + Kalksalzgemisch + 1 E Vigantol Handelsware.

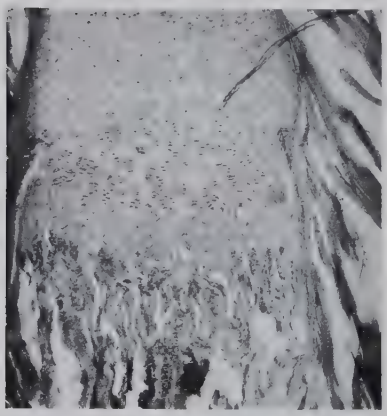


Abb. 8. Ratte 2926. 8. Tag.

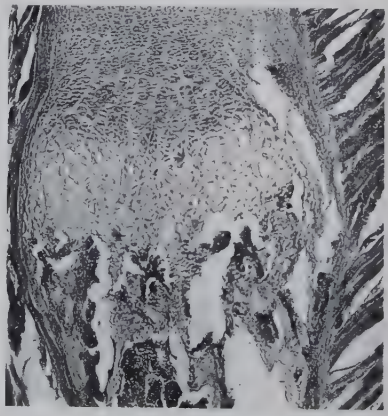


Abb. 9. Ratte 2930. 24. Tag.

Abb. 10. Ratte 2931. 28. Tag.

Ratte 2930 (Abb. 9): Am 24. Tage beginnt eine Vergrößerung der Säulenzone, die mit den sekundären Veränderungen als leichte Rachitis angesprochen werden muß.

Ratte 2931 (Abb. 10): Am 28. Tage: Das Bild der Rachitis ist ausgeprägt entwickelt: die gegebene Dosis Vigantol (1 E) hat versagt.

4. Reihe: Mc Collum-Kost und Calcipot D.

Ratte 2847 (Abb. 11) (8. Tag), Ratte 2850 (Abb. 12) (20. Tag) und Ratte 2852 (Abb. 13) (28. Tag): alles normal. Am 8. Tag vielleicht eine leichte Schädigung, die dann bald zurückgeht.

Mc Collum 3143 + 12 mg Calcipot D.

Abb. 11. Ratte 2847. 8. Tag.

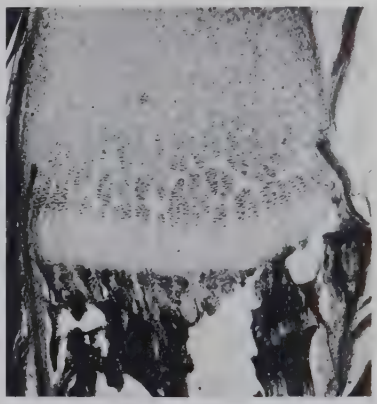


Abb. 12. Ratte 2850. 20. Tag.

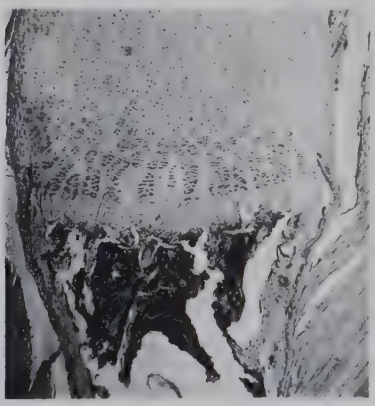


Abb. 13. Ratte 2852. 28. Tag.

eine Längenzunahme der Säulenzone ein: trotz Vigantol kommt es zur typisch rachitischen Knorpelbildung. Der Befund wird unten diskutiert werden.

4. Calcipot D zeigt genau die umgekehrte Entwicklung: von anfangs hohen, verdächtigen Werten sinkt die Säulenzone auf 85, also den normalen Durchschnittswert.

5. Weizenkeime ($^1/_4$ g) enthalten keine antirachitischen Schutzstoffe, also die in ihnen enthaltenen Wuchsstoffe können nicht als allein wirksam bezeichnet werden (Abb. 14).

6. Weizenkeime mit Calcipot D ergeben von Anfang an niedrige, normal bleibende Werte der Säulenzone. Bereits nach 4 Tagen haben wir den niedrigen Grundwert (Abb. 15).

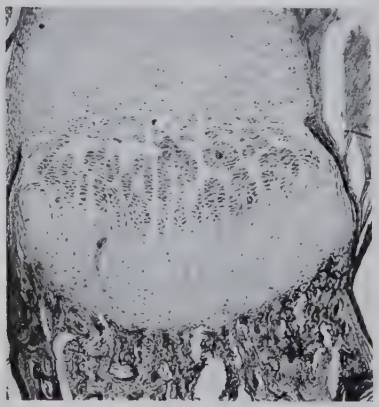


Abb. 14. Ratte 2887. 28. Tag.
McCollum 3143 + $^1/_4$ g Weizenkeime.

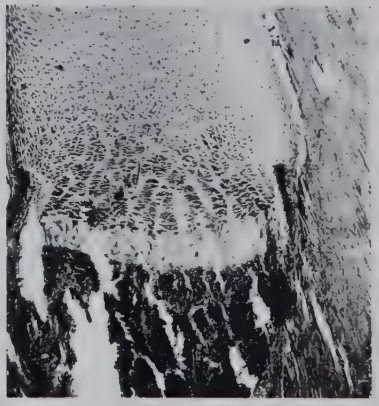


Abb. 15. Ratte 2880. 28. Tag.
McCollum 3143 + $^1/_4$ g Weizenkeime + 12 mg Calcipot D.

Was die Trabekelzone betrifft, so zeigt sie durchschnittlich bei den schützenden Zulagen die niedrigsten Werte. Auch hier dürfte eine unvollkommene Resorption Ursache für diese Verlängerungen sein. Die Ursache der Verlängerung der Trabekelzone ist durch die Erdheimsche Analyse in seiner Arbeit „Rachitis und Epithelkörperchen" geklärt worden (s. oben*).

Die für den rachitischen Knochen beweisende verlängerte Knorpelsäulenzone erweist sich demnach nicht als Folge vermehrter Neubildung, sondern vor allem stark verminderter Resorption. Und daraus folgt nun, daß dieser Resorptionsvorgang für das Werden des rachitischen Knochens ausschlaggebend sein muß. Bleibt er schwächer als die Neubildung, so kommt es zu einem gehemmten Ansatz; halten sich beide die Waage, so entsteht das normale Wachstum; wird er stärker, so entstehen atrophische

* Die Zahnuntersuchungen von Euler, auf die bereits verwiesen wurde, erlauben eine noch wesentlich feinere Analyse der Veränderungen.

Vorgänge: die Säulenzone verkürzt sich, wird resorbiert und wir gelangen zu den rein atrophischen Bildern, wie sie in früheren Arbeiten abgebildet wurden (Bd. 153, S. 371; Bd. 189, S. 195; Bd. 167, S. 535).

Entgegen der früheren Anschauung, daß die sogenannten osteoiden Säume entkalkter alter Knochen seien — eine Anschauung, die zu der Verabreichung von Kalkpräparaten bei Rachitis führte —, ist durch die Analysen von M. B. Schmidt, Erdheim und anderen bewiesen, daß osteoide Säume neu angebaute Knochengrundsubstanz sind, die also einer produktiven Tätigkeit der Osteoblasten ihre Entstehung verdanken. Da nun der Knochen selbst einem starken inneren Umbau unterliegt derart, daß der Anbau vorzugsweise von außen und durch Osteoblasten erfolgt, der Abbau vom Innern durch Osteoklasten geleitet wird, entsteht auch im knöchernen Teil des Skelets ein Antagonismus zwischen Anbau und Verbrauch. Für das Verhältnis zwischen diesen beiden Eigenschaften gilt das gleiche wie für die Bildung und Resorption des Knorpels (s. oben). Wir müssen infolgedessen annehmen, daß auch die Osteoklastentätigkeit bei Rachitis erheblicher herabgesetzt ist als die Osteoblastentätigkeit. Das kommt für die Entstehung der Osteomalazie des Erwachsenen in Betracht.

Die Erkenntnis nun, daß Wuchsstoffe für die Bildung des Knorpels wie des Knochens unbedingte Voraussetzung sind, muß zu der Folgerung führen, daß diese bei der Entstehung der krankhaften Gewebe beteiligt sind, sei es, daß sie aus den Diäten stammen, sei es, daß sie aus der Vorversuchszeit im Körper gestapelt sind oder daß der jugendliche Organismus sie zu synthetisieren vermag, der ältere aber nicht mehr. Wir werden unten sehen, daß die letztere Annahme die größere Wahrscheinlichkeit für sich hat. Der Beweis kann natürlich erst geführt werden, wenn chemische Stoffe in genau gemessener Menge zu einer wirklich einwandfreien synthetischen Kost gegeben werden und die Ausscheidung bestimmt werden kann.

Aus der oben angegebenen Versuchsreihe kann man ferner erkennen, daß die Zugabe von Kalk bei experimenteller Rattenrachitis tatsächlich eine Verschlimmerung des Zustandes herbeiführt und so weit führen kann, daß selbst die sonst wirksame Heildosis des Vitamins D nur eine aufschiebende Bedeutung hat, aber keine endgültige prophylaktische.

Im Rahmen dieser Studien ist nun eine Anzahl weiterer Versuche angestellt.

Versuch 71.

In der gleichen Anordnung wie der Versuch 70 wurde die Sherman-Pappenheim-Kost 84 untersucht. Das Ergebnis zeigt bei den Gewichtskurven der jungen Tiere (Tabelle 4), daß sie im allgemeinen sogar eine etwas bessere Zunahme hatten als bei der Mc Collum-Kost, und daß das ungünstige Verhältnis Phosphor : Kalk schädigend wirkt.

Wenn man aber nun denkt, daß dieser entschieden guten Gewichtszunahme eine Rachitis hätte folgen müssen, so führte dieser Versuch zu

Tabelle 4. Verhalten der Gewichtszunahmen.

Gruppe		4.	8.	12.	16.	20.	24.	28. Tag
Sherman-Pappenheim 84, Original	R	2839	2840	2841	2842	2343	2844	2845
		− 10	+ 3	+ 8	+ 10	+ 10	+ 8	+ 6
Kalksalzgemisch	R	2924	2918	2919	2920	2921	2922	2923
		− 10	+ 3	+ 5	+ 10	+ 15	+ 19	+ 23
Kalksalzgemisch und Vigantol	R	2911	2912	2913	2914	2915	2916	2917
		+ 1	+ 7	+15	+ 7	+ 17	+ 20	+ 25
Calcipot D	R	2832	2833	2834	2835	2836	2837	2838
		− 5	0	+ 5	+ 11	− 10	+ 5	+ 10
$^1/_4$ g Keime	R	2867	2868	2869	2870	2871	2872	2873
		− 20	+ 8	+ 5	+ 8	+ 12	+ 15	+ 10
$^1/_4$ g Keime Calcipot D	R	2860	2861	2862	2863	2864	2865	2867
		− 15	+ 3	+ 7	+ 13	+ 7	+ 22	+ 20

Tabelle 5. Messung der Wachstumszonen in den Rippenknorpeln. (Werte in μ.)

	Wucherzone	Säulenzone	Trabekel		Wucherzone	Säulenzone	Trabekel
Sherman-Pappenheim 84.				+ Calcipot D.			
2839	165	100	335	2832	250	65	200
2840	300	65	200	2833	165	65	165
2841	200	100	250	2834	250	65	200
2842	335	100	250	2835	250	115	250
2843	200	35	85	2836	165	0	0
2844	250	100	115	2837	330	100	165
2845	200	50	100	2838	165	0	0
+ 3,6 mg Kalkgemisch.				+ Weizenkeime.			
2924	250	100	335	2867	250	85	165
2918	250	85	165	2868	250	85	200
2919	330	100	165	2869	250	65	165
2920	250	150	330	2870	250	115	165
2921	165	200	330	2871	200	65	165
2922	250	200	250	2872	250	100	165
2923	250	100	250	2873	165	130	165
+ Kalkgemisch + Vigantol.				+ Calcipot D + Weizenkeime.			
2911	250	100	250	2860	300	50	250
2912	330	65	330	2861	250	65	200
2913	200	100	250	2862	250	50	165
2914	250	150	200	2863	250	100	250
2915	300	50	200	2864	165	130	165
2916	200	100	200	2865	165	100	165
2917	250	115	165	2866	200	50	130
				Norm!			
Diät X + $^1/_2$ g Hefe.				Diät X + 1 g Hefe.			
2888	415	65	250	2890	415	100	250
2889	250	85	250	2891	330	100	330

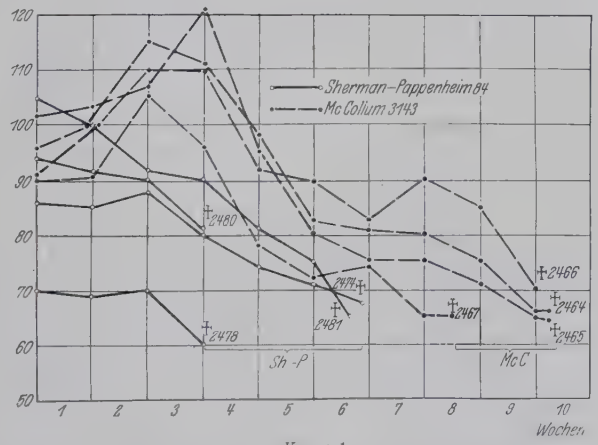
einer vollen Enttäuschung, denn aus der Tabelle 5 läßt sich erkennen, daß die Knorpelsäulenzone überall niedrig geblieben ist und keine Rachitis sich entwickelt hat*.

Beide Kostformen sind also in bezug auf den Wachstumsvorgang völlig verschiedenartig. Es läßt sich noch nicht erkennen, ob hier eine Veränderung des Produktions- oder des Resorptionsvorganges eingesetzt hat. Dazu sind weitere Untersuchungen erforderlich. Die Sherman-Pappenheim-Kost 84 kann nicht als sicher rachitogen bezeichnet werden. Unbekannte Zusatzfaktoren sind zu untersuchen.

Versuch 72a.

Versuche mit älteren Ratten (Anfangsgewicht 70—105 g).

Die Sherman-Pappenheim-Kost 84 wurde in gleicher Form wie in Versuch 71 benutzt.



Kurve 1.

Die McCollum-Kost mußte modifiziert werden, weil Weizengluten nicht zu erhalten war. Statt dessen wurde gereinigtes Casein gegeben. Außerdem wurden statt Grieß die ganzen Weizen- bzw. Maiskörner gegeben (s. oben). Diese Kost wird oft als McCollum-Kost angeführt mit Ausnahme der Caseinverwendung.

In Kurve 1 sieht man nun, daß diese älteren Ratten gewichtsmäßig ganz anders als junge reagieren.

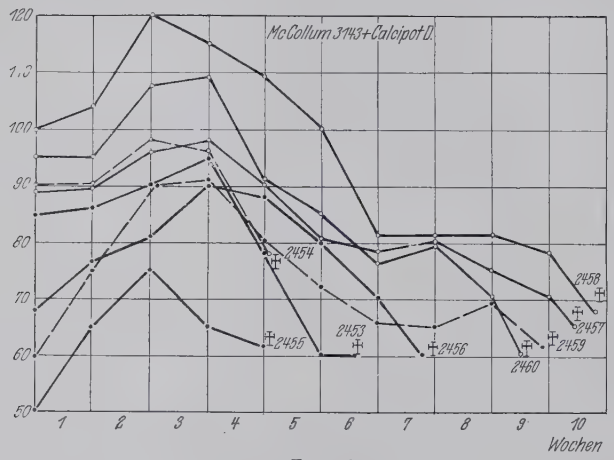
Sherman-Pappenheim-Kost: Statt der bei jüngeren Ratten noch eintretenden Gewichtszunahme (s. Tabelle 4) finden wir von Anfang an eine fortschreitende Abnahme bis zum Tod ($3^1/_2$—6 Wochen).

* Auch hier ergeben die Zahnuntersuchungen Eulers weitere Aufschlüsse.

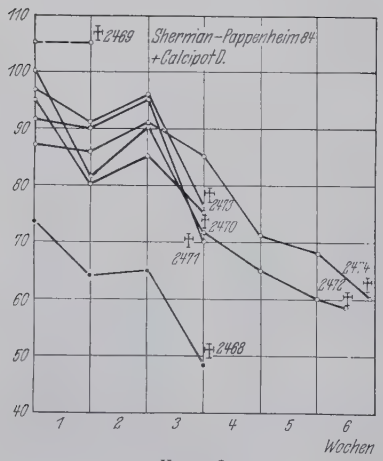
Bei Mc Collum-Kost finden wir anfangs bis zu 3 Wochen einen ziemlich starken Gewichtsanstieg, dann schnellen Abfall und Tod in 8—10 Wochen.

Versuch 72b.

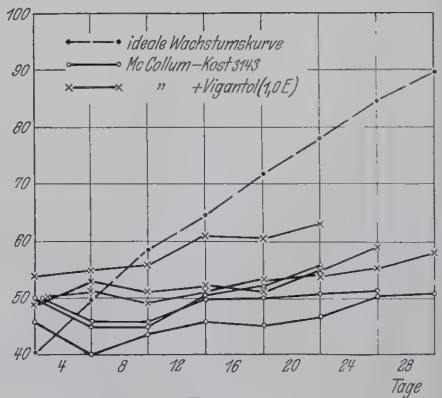
In diesen Versuchen wurden zu den beiden genannten Kostformen täglich 12 mg Calcipot D gegeben. Aus Kurve 2 (Mc Collum-Kost)



Kurve 2.



Kurve 3.



Kurve 4.

und Kurve 3 (Sherman-Pappenheim-Kost) ergibt sich, daß das nichts an dem Verlauf der zum Tod unter Gewichtsabfall führenden Kurven ändert.

Histologisch zeigen sämtliche Ratten dieser Versuchsreihen reine Atrophien. Es fehlen auch Zeichen einer während des Versuchs überstandenen Rachitis*.

Ursächlich kommen als fehlend in Betracht: Wuchsstoffe, Aminosäuren, Mineralien. Vielleicht enthält Weizenkleber derartige Stoffe, z. B. einen bisher noch unbekannten Faktor, der die Bildung von Knochengrundsubstanz anregt? Das ist in weiteren Versuchen zu entscheiden.

Vergleichsweise sei die Normalgewichtskurve bei Vollkost mit der Gewichtszunahme bei McCollum-Kost 3143 in Kurve 4 gegenübergestellt.

Beurteilung von Versuch 72a und b.

Zunächst ist man geneigt, den verschiedenen Verlauf der Gewichtskurven bei der Wirkung der Rachitisdiäten in diesen beiden Versuchsabteilungen auf die Modifikation der McCollum-Kost zurückzuführen. Doch ist das ziemlich unwahrscheinlich, weil ja auch die Sherman-Pappenheim-Kost den gleichen Gewichtsabfall zeigt, obwohl sie nicht modifiziert wurde. Infolgedessen dürfte die Annahme die größere Wahrscheinlichkeit haben, daß das höhere Alter der Tiere und die damit steigenden Ansprüche des reiferen Tieres die endogene Ursache der verschiedenartigen Reaktion sind. Da nun außerdem die Körnerzulage wohl zweifellos wesentlich vollkommener sein muß als die Verwendung von Grieß, so müßte man eher eine Verbesserung der Wirkung erwarten. Der Wandel von Weizengluten in Casein kann immerhin als Ursache in Betracht kommen. Die Versuche werden weiter fortgesetzt.

Die größere Wahrscheinlichkeit liegt darin, daß die älteren Ratten infolge ihrer höheren Ansprüche die umfassenden Mängel der Rachitisformen deutlicher hervortreten lassen, als bei den jüngeren Ratten möglich war. Am wahrscheinlichsten ist bei den jüngeren Ratten die aus der Vorfütterung stammende Mitwirkung von Reserve-Wuchsstoffen oder deren Produktion in geringer Menge.

12 mg Calcipot D verbessern hier nichts. Ob höhere Zulagen eine Verbesserung erreichen, konnte noch nicht untersucht werden. Auf Grund der früheren Erfahrungen aber möchte man der Erwartung Ausdruck geben, daß für die Wirkung beim älteren Individuum eine wesentliche Erhöhung der Hefekomponente erforderlich sein dürfte. Wuchsstoffe haben offenbar nicht jene Spurenwirkung wie Vitamin D.

Diskussion der Ergebnisse.

1. Beide untersuchten Rachitisdiäten lassen erkennen, daß sie auch sonst äußerst unvollkommen sind, besonders die Sherman-

* Die Zahnuntersuchungen Eulers ergaben wieder weitere Aufschlüsse.

Pappenheim-Kost; gegenüber der Norm bleiben die Ratten doch weit im Gewicht zurück, ältere Ratten nehmen sogar stark ab, entwickeln eine Atrophie hohen Grades und sterben.

Daraus ist zu folgern, daß die Rachitisdiäten nicht nur einen Vitamin D-Mangel aufweisen müssen, sondern auch noch andere Mängel. Auf diese ist schon oft aufmerksam gemacht. Ich verweise auf die Zusammenstellung von Bomskov. Die aus diesen Mängeln entstehenden Umwelteinwirkungen sind der eine, nahrungsbedingte Teil des prärachitischen Zustandes.

2. Ältere Ratten entwickeln aber bei einer leicht modifizierten Mc Collum-Kost und bei unveränderter Sherman-Pappenheim-Kost eine Atrophie, wo jugendliche noch Rachitis bekommen. Aus dem Unterschied zwischen diesen beiden Reaktionen der Lebensalter wird man vielleicht dazu gelangen können, die zweite endogene Komponente des prärachitischen Zustandes erforschen zu können.

3. Reines Vitamin D besitzt nur eine aufschiebende prophylaktische Wirkung, wenn zu viel Kalkgemisch verabreicht wird. Hier wird man notwendigerweise die entwicklungsgeschichtlichen tieferen Ursachen der Rachitisbereitschaft zu untersuchen haben. Wahrscheinlich werden hier vergleichende Untersuchungen in der absteigenden Tierreihe bis zu den Knorpelfischen notwendig sein, um chemisch die Relation Phosphor zu Kalk, andererseits die Beziehung zum Vitamin D zu erforschen. Diese Vorgänge dürften mit Sicherheit aufs engste an die Entwicklung der Hormondrüsen geknüpft sein.

4. Die histologische Untersuchung der Wachstumszonen erlaubt es, die feineren Vorgänge zu studieren. Hier sei erwähnt, daß ebenso wie in der VII. Mitteilung (S. 228) bei diesen Präparaten die Störungen der vaskulären Resorption auffielen: Blutarmut der Kapillaren, oft fast völliges Zusammenfallen kamen häufig vor. Auf Grund der früher erhobenen Befunde darf angenommen werden, daß hier ein zusätzlicher Vitamin A-Mangel beteiligt sein könnte. Und es ist nicht unwahrscheinlich, daß die erhöhte Infektionsbereitschaft des Rachitikers mit diesen gestörten Kapillarfunktionen und deren Folgen zusammenhängen könnte.

5. Ferner ist zu untersuchen, ob eine der Mesotrophie ähnliche Lebensmöglichkeit an der untersten Grenze etwa zur Erklärung des prärachitischen Zustandes ausreichen könnte.

6. Praktisch läßt sich aus diesen Versuchen bereits schließen, daß die isolierte Verabfolgung von Vitamin D ausreichend prophylaktisch zu wirken vermag. Doch vermag diese Prophylaxe nicht jene Schäden zu beseitigen, die Folge der übrigen, oben nachgewiesenen Mängel der Kost sind, welche zur Prärachitis führen. Dazu sind Kombinationspräparate entschieden aussichtsreicher.

7. Die bisherige experimentelle Rachitisforschung ist demnach nur geeignet, das Vitamin D zu standardisieren. Der Gesamtumfang „Rachitis“

sowie die Erklärung der ihr ähnlichen Krankheiten muß durch eine wesentliche Erweiterung der Forschungsmethoden versucht werden. Auch die bisherigen Testverfahren reichen nicht aus, da sie nicht fein genug sind, die feineren Teilphasen des Wachstumsvorganges erkennen zu lassen.

Die Rachitisversuche müssen stets durch die Berücksichtigung der Zahn- und Kieferveränderungen vervollkommnet werden. Auf die Untersuchungen von Euler wird ausdrücklich verwiesen (s. 18. Mitt.).

Wir müssen uns von der bisherigen einseitigen Vitamin D-Forschung freimachen und einer umfassenderen eigentlichen Rachitisforschung zuwenden. Der Weg dazu wurde in der 8. und 9. Mitteilung gezeigt. Die Bildung der Antikörper bei der mesotrophischen Kost wird in der nächsten Mitteilung beschrieben.

(Abgeschlossen am 5. Januar 1942.)

Literatur.

Bessau, G.: Alterskrankheiten vom Blickpunkt des Kinderarztes. Med. Klin. **1936**, Nr. 16. — Dressen: Med. Klin. **1940**, Nr. 3. — Erdheim, J.: Rachitis und Epithelkörperchen. Kaiserl. Akademie d. Wiss. Wien, Bd. 90, 1914. — Erdheim, J.: Die Lebensvorgänge im normalen Knorpel und seine Wucherung bei Akromegalie. Berlin, Springer, 1931. — Gierthmühlen, F. W.: Über den Heilwert von bestrahlter Hefe und organischem Kalk bei Rachitis. Dtsch. med. Wschr. **1938**, S. 1357. — Groetschel: Der öff. Ges.dienst **1940**, H. 22. — Hofmeier, Kurt: Zur Frage der Rachitisverhütung. Arch. Kinderhk. **120**, H. 2, 1940. — Hofmeier, Kurt: Verstärkung der Vitamin D-Dosierung bei der Rachitisbekämpfung. Deutsches Ärzteblatt **1941**, S. 333. — Kollath, Werner: Wachstum und Zellersatz in der Vitaminforschung. Naunyn-Schmiedebergs Arch. **170**, VII. Mitt., S. 285; VIII. Mitt., S. 635; IX. Mitt., S. 666; XIV. Mitt. **197**, S. 550. — Kollath, Werner: Über den prärachitischen Zustand und seine Abhängigkeit von Konstitution und Ernährung. Klin. Wschr. (im Druck). — de Rudder: Bekämpfung der Rachitis. Münch. med. Wschr. **1937**, S. 1841. — Schmidt, M. B. Verh. dtsch. path. Ges. 1909. — Techentin, E. K.: Heilung experimenteller Rachitis bei Ratten durch unzureichende Dosen von Vitamin D und gleichzeitiger Gabe von Calcium- und Phosphorsalzen. Inaug.-Diss. Hamburg 1941. — Winkler: Med. Welt **1940**, Nr. 4.

Von der Abteilung für Kinderkrankheiten des Reichshospitals, Kopenhagen (Chefarzt: Prof. Dr. med. C. E. Bloch) und vom Medicinalcos biologisch-chemischem Laboratorium (Chef: Dr. med. Erik Jacobsen).

Über die Wirkung einiger sympathicotropen Amine (Ephedrin, β-Phenylisopropylamin* usw.) auf die Blase des Kaninchens.

Von

B. Chr. Christensen und **V. Larsen.**

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 23. Oktober 1941.)

Mehrere Verfasser [Balyeat und Rinkel (3) und Boston (4)], die Ephedrin oral gegen Asthma und Heufieber anwandten, haben berichtet, daß Ephedrin häufig den Drang zum Wasserlassen hemmte oder sogar Retention veranlaßte, so daß tägliche Katheterisation notwendig war, und ebenso Verstopfung gab. Diese Nachteile wurden häufig bei älteren Personen beobachtet, aber auch bei Kindern. Diese Beobachtungen brachten Balyeat und Rinkel auf den Gedanken, ob es möglich sei, große Dosen Ephedrin bei der Behandlung von Enuresis nocturna anzuwenden.

Balyeat und Rinkel interessieren sich in dieser Verbindung für die Innervation der Blase und scheinen anzunehmen, daß die genannte Ephedrinwirkung einer Stimulation von sympathischen, blasen-erschlaffenden Nerven zu verdanken ist. Es ist nämlich eine Tatsache, daß die Blase verschiedener Tiere, z. B. Schweine [Elliott (9)], Katzen und zum Teil auch Affen (Macacus Rhesus), erschlafft durch Irritation der sympathischen n. n. hypogastr. und in Übereinstimmung hiermit durch die Einwirkung von Adrenalin [Elliott (8)]. Edmunds und Roth (7) beobachten ebenfalls Blasenerschlaffung durch Irritation der n. n. hypogastrici bei der Katze, doch geht hier eine Kontraktion voraus, die auf m. trigonalis lokalisiert ist; Elliott (9) beobachtet dieselbe geringe initiale Kontraktion bei der Katze. Dem Vorstehenden entsprechend findet Lewandowsky (16), daß Adrenalin i. v. bei der Katze Blasenerschlaffung und niemals Kontraktion ergibt. Langley (14) findet gleichfalls bei der Katze — nach Adrenalin i. v. nur Erschlaffung und herabgesetzte spontane Bewegung, aber nie Kontraktion, und bestätigt also Lewandowskys Resultate. Edmunds und Roth (7) finden bei Versuchen mit Katzen, daß große Dosen Adrenalin Dilatation bewirken, während kleine Dosen Kontraktion ergeben. Abelin (1) konstatiert bei Kaninchen meistens herabgesetzten Tonus und Hemmung von spontanen Bewegungen nach Adrenalin, indessen wurde auch einzelne Male Kontraktion beobachtet. Streuli (22) sieht dagegen immer Hemmung durch Adrenalin auf isolierter Kaninchenblase. Adler (2) beobachtet in der Regel Blasenerschlaffung nach Adrenalin auf isolierter Froschblase. Young und Macht (24) finden, daß Adrenalin sowohl bei Kaninchen, Hund, Katze, Ratte, Schwein, Macacus Rhesus und mehreren anderen Tieren und beim Menschen erschlaffend auf isolierte Fundusstreifen wirkt, aber kontrahierend auf Streifen des Trigonum-Teiles.

* Bei den hiesigen Versuchen haben wir das Präparat Mecodrin „Mco" verwendet; dasselbe ist racemisches β-Phenylisopropylaminsulfat; mit Ephedrin versteht sich l-Ephedrinhydrochlorid Ph. Dan. 1933.

Bei den Versuchen mit denselben Versuchstieren, wo Adrenalin Blasenerschlaffung bewirkt, haben Langley und Anderson (15) starke Kontraktion der Blase bei Irritation der parasympathischen n. n. pelvici wahrgenommen, und Edmunds und Roth (7) finden bei der Katze bei Irritation der n. n. pelvici erhöhte Automatie und Tonus. Elliott (8) findet indessen, daß Adrenalin sowie Irritation der n. n. hypogastr. ohne Blasenwirkung auf Hund, Kaninchen und Mungo (Herpestes mungo) ist; was Kaninchen betrifft, so ist dies nicht in Übereinstimmung mit den Befunden von Abelin und namentlich von Streuli und Young und Macht; dagegen gibt allerdings Elliott (9) an, daß er bei Kaninchen durch Stimulation der n. n. pelvici den intravesikalen Druck bis auf 25 cm H_2O-Druck heraufsetzen kann, was anzeigt, daß die parasympathische Innervation die fördernde ist; hiernach könnte man erwarten, daß die sympathische Innervation (falls hemmende Innervation bei der Blase dieses Tieres zu finden ist) die hemmende sein müßte in Übereinstimmung mit Abelin und namentlich mit Streuli und Young und Macht. Ganz entgegengesetzt findet Elliott (9) die Verhältnisse beim Frettchen (Mustela putorius var. domestica), der Zibetkatze (Viverra Zibetha) und der Ziege (jedoch nur beim Männchen), wo sowohl Adrenalin wie Irritation der n. n. hypogastrici Kontraktion ergibt.

Aus allen diesen Untersuchungen geht u. a. die Tatsache hervor, (wie namentlich von Elliott (8) hervorgehoben), daß die Wirkung von Adrenalin auf die Blase (Detrusor) meist hemmend ist, nämlich bei den Tieren, wo die sympathische Blaseninnervation hemmend ist; bei den Tieren, wo die Irritation der sympathischen n. n. hypogastrici dagegen erhöhten Tonus bewirkt, wirkt Adrenalin stimulierend.

Zusammenfassend kann man sagen, daß hinsichtlich der Kaninchenblase recht gute Einigkeit darüber besteht, daß die sympathische Innervation hemmend ist, und daß Adrenalin hemmend wirkt, während die parasympathische Innervation fördernd ist; in dieser Verbindung muß erwähnt werden, daß allgemein angegeben wird, daß die sympathische Innervation auch beim Menschen hemmend ist [Lundsgaard (16), Wright (22)]; die genannten Untersuchungen von Young und Macht deuten auch darauf hin, während allerdings Elliott (9), S. 444] sich demgegenüber etwas reserviert verhält.

Von diesen Tatsachen ausgehend: daß Adrenalin bei vielen Tieren und beim Menschen hemmend auf die Blase wirkt, und daß Balyeat und Rinkel nach (meist langwieriger?) oraler Anwendung von Ephedrin Urinretention finden, ist es verlockend, mit Balyeat und Rinkel anzunehmen, daß auch die Ephedrinwirkung eine Wirkung auf die Nerven der Blase sein müsse, indem Ephedrin sowohl in chemischer wie in pharmakologischer Hinsicht mit Adrenalin verwandt ist.

Während man in humaner Praxis nur ein einzelnes Mal [L. E. Parkhurst (21)] Adrenalin zum Zwecke einer solchen Blasenwirkung angewandt hat, kann Ephedrin bequem peroral gegeben werden, und zwar hat es den großen Vorteil, eine recht lange Wirkung im Organismus zu haben. Über eine solche Anwendung von Ephedrin bei Enuresis nocturna berichtet erst L. E. Parkhurst (20) und später R. W. Brookfield (5) und (6), Ejnar Ørkild (25) u. a.; die genannten Verfasser scheinen alle anzunehmen, daß „Ephedrin as a sympathetic stimulant would have a favourable effect

in cases of enuresis by contracting the internal sphincter and relaxing the bladder wall" (5).

Obwohl die genannten Verfasser sich wohl bestrebten, bei vielen von diesen — wie hervorgehoben wird — oft hart schlafenden Patienten leichteren Schlaf hervorzurufen, so ist der Grund zu den erzielten günstigen Resultaten offenbar nicht, daß die Patienten in der Nacht erwachten, aufstanden und urinierten, sondern eine Blasenwirkung. Durch Einführung von β-Phenylisopropylamin als Mittel gegen Enuresis nocturna bestreben sich Molitch und Poliakoff (19) dagegen, die Patienten weniger hart schlafen zu lassen, so daß sie in der Nacht spontan erwachen, aufstehen und urinieren. Trotzdem Ephedrin chemisch und pharmakologisch nahe verwandt mit β-Phenylisopropylamin ist, ist (in gewisser Hinsicht) der Wirkungsgrad recht verschieden, und dies gilt gerade in hohem Maße für die Weckwirkung [Erik Jacobsen, J. Tind Christensen, Franciska Eriksen und Jens Hald (12)]. Mit ganz derselben günstigen Wirkung wie Molitch und Poliakoff haben S. Muntner (20) und Konrad S. Jørgensen (13) β-Phenylisopropylamin oder β-Phenylisopropylmethylamin gegen Enuresis nocturna verordnet; indessen erzielen diese Verfasser Resultate mit weit kleineren Dosen (etwa 5 mg); sämtliche genannten Verfasser, die β-Phenylisopropylamin angewandt haben, berichten über Rückfälle bei den Patienten nach Fortlassung desselben, während die hier zitierten Verfasser, welche Ephedrin angewandt haben, von zahlreichen Fällen dauernder Heilung berichten.

Auf Grundlage der oben genannten Erwägungen versuchten wir bei der Behandlung von Enuresis nocturna bei Kindern Mecodrin anzuwenden. Da das Leiden sehr launenhaft ist, wandten wir das Medikament längere Zeit hindurch bei 20 Kindern an. Die Dosen waren von 5—15 mg täglich um 18 Uhr; wir konstatierten aber keine Wirkung, die man dem Medikament hätte zuschreiben können. Ungewünschte Nebenwirkungen wurden nicht beobachtet. Der Schlaf der Kinder war nicht beeinflußt, und ihr nächtliches, unfreiwilliges Wasserlassen änderte sich nicht.

Da wir klinisch eine Wirkung auf Enuresis nocturna nicht nachweisen konnten, beschlossen wir zu untersuchen, ob man tierexperimentell nachweisen könne, daß Mecodrin und Ephedrin eine Blasenwirkung besäßen, welche zu ihrer Anwendung gegen obengenanntes Leiden berechtigten.

Zur Orientierung wurden Versuche mit einem Blasenstück (Längsstreifen) von drei verschiedenen Kaninchen ausgeführt, indem das Blasenstück in gewöhnlicher Weise in körperwarmer sauerstoffdurchblasener Tyrodelösung aufgehängt wurde, und die Kontraktionen wurden in vergrößertem Maßstab auf geschwärztem Papier registriert; diese Versuche sollen kurz beschrieben werden. In allen Fällen wurden schwache, aber deutliche spontane rhythmische Kontraktionen registriert, welche als Indikator für die Vitalität des Blasenstückes dienen konnten (s. als Beispiel Abb. 1). Eine geringe Menge von verschiedenen konzentrierten Lösungen

wurde zugesetzt. so daß die unten genannten Konzentrationen im Bade entstanden.

Bei den zwei Tieren beobachtete man übereinstimmend keine Wirkung des β-Phenylisopropylaminsulfats 1 : 700000 und 1 : 140000, während β-Phenylisopropylaminsulfat 1 : 56000 bei beiden deutlich erhöhten bzw. schwach erhöhten Tonus ergab ohne Änderung der Spontankontraktionen (Abb. 1), und bei dem Versuch, wo die Wirkung von β-Phenylisopropylaminsulfat 1:56000 am schwächsten gewesen war, wurde die Reaktionsfähigkeit des Präparates dadurch erwiesen, daß Adrenalin 1 zu 2,8 Mill. bedeutende Tonusreduktion und Hemmung spontaner Bewegungen ergab (Abb. 2). Bei dem dritten Tier hatte β-Phenylisopropylaminsulfat keine Wirkung, nicht einmal in einer Konzentration von 1 : 10000, während Azetylcholin eine äußerst kräftige Kontraktion hervorrief, was die faktische Reaktionsfähigkeit des Präparates zeigte.

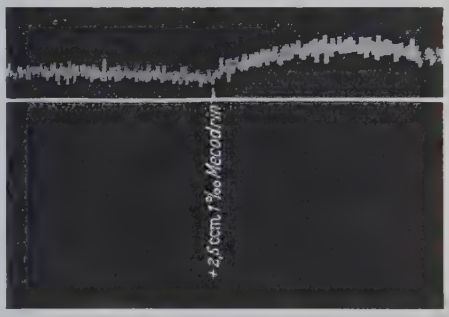


Abb. 1. Isolierter Kaninchen-Blasenstreifen in Tyrodelösung aufgehängt. Spontane Bewegungen sind deutlich zu sehen. β-Phenylisopropylaminsulfat 1 : 56000 gibt Kontraktion.

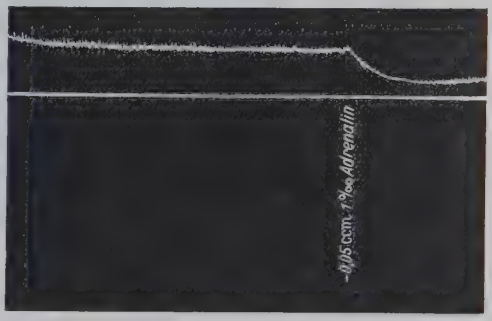


Abb. 2. Isolierter Kaninchen-Blasenstreifen in Tyrodelösung aufgehängt. Adrenalin 1 : 2800000 gibt Erschlaffung.

Ephedrin HCl 1 zu 700000 und 1 zu 400000 schien bei den erstgenannten zwei Tieren eher tonusreduzierend zu wirken.

Diese Versuche waren jedoch recht wenig zufriedenstellend, u. a. wegen des recht schwachen Effektes des β-Phenylisopropylaminsulfats und des Ephedrins auf den isolierten Blasenstreifen.

A. Intravenöse Anwendung.

Im folgenden soll über die Versuche berichtet werden, welche mit Blase in situ an Kaninchen (Gewicht ungefähr 2,5 kg) ausgeführt worden sind, die mit Urethan narkotisiert waren, und wo die Blase vollständig intakt gelassen wird.

Tabelle 1. Intravenöse Anwendung.

Kaninchen Nr.	Injiziert intravenös ins Ohr	Wirkung auf die intakte Blase in situ	Blasendruck (Wasserdruck) vor der Injektion
138	0,2 mg Azetylcholin	Kontraktion ~ etwa 25 ccm; entsprechende Erschlaffung etwa 2 Minuten später.	Etwa 3 cm Druck
139	0,02 „ Adrenalin	Geringe Dilatation ~ etwa 6 ccm.	„ 3 „ „
140	0,04 „ „	Fast keine Wirkung.	
140	0,2 „ „	Dilatation ~ > 6 ccm.	„ 4 „ „
142	20 mg Ephedrin hydrochl.	Keine Wirkung.	
151	25 „ „ „	„ „	Niedriger Blasendruck
151	25 „ „ „	„ „	„
151	25 „ „ „	„ „	„
142	30 „ „ „	„ „	
150	30 „ „ „	„ „	
140	10 „ β-Phenylisopropylaminsulfat	Fast keine Wirkung.	
139	20 „ „	Kontraktion ~ 12 ccm; Tonussteigerung dauernd.	Etwa 2 cm Druck
138	20 „ „	Kontraktion; wenige Minuten später wieder Erschlaffung, aber langwieriges Aufhören spontaner Bewegungen.	„ 3 „ „
141	20 „ „	Kontraktion ~ 18 ccm, welche recht andauernd ist.	„ 4 „ „
151	25 „ „	Kontraktion ~ 33 ccm; während $^1/_2$ Stunde langsam abnehmend.	Niedriger Blasendruck
151	25 „ „	Kontraktion ~ 36 ccm; dauert etwa 20 Minuten.	„
142	30 „ „	Keine Wirkung.	
150	30 „ „	Kontraktion ~ 41 ccm; lange andauernd.	
150	30 „ „	Kontraktion ~ 42 ccm; andauernd.	
140	40 „ „	Kontraktion ~ 8 ccm; keine nachfolgende Erschlaffung.	Etwa 4 cm Druck
142	0,1 „ Histamin	Kontraktion ~ 4 ccm; andauernd.	
142	0,9 „ „	Kontraktion ~ 10 ccm; andauernd.	
141	NaCl 2 ccm 9 ‰	Keine Wirkung	Kaum 4 cm Druck

Von den zwei verschiedenen Versuchsaufstellungen, die angewandt wurden, ist die eine die ganz einfache, daß ein Katheter durch Urethra in die Blase eingeführt wird, und der Katheter ist wiederum mit einem geschlossenen Behälter verbunden, von dessen oberstem Teil eine Röhre ausgeht und zu einer volumetrischen Glocke führt, die 1 mm Ausschlag für 1 ccm Volumenänderung gibt.

Abb. 3. Kaninchen Nr. 151. Intakte Blase in situ; Registrierung des Blasenvolumens. 25 mg Ephedrinhydrochlorid intravenös ins Ohr ist zweimal ohne Wirkung. 25 mg β-Phenylisopropylaminsulfat intravenös ins Ohr gibt gute und langwierige Kontraktion.

Abb. 4. Kaninchen Nr. 123. Intakte Blase in situ. Registrierung des Blasenvolumens. 1 mg Azetylcholin intravenös gibt mäßige, aber langwierige Kontraktion.

Ehe der Katheter eingeführt wird, wird derselbe und ein Teil des Behälters mit körperwarmem Salzwasser gefüllt; wenn der Katheter eingeführt ist (wonach zur Fixierung desselben Ligatur um penis gelegt wird), wird manchmal Salzwasser in die Blase laufen, manchmal Urin auslaufen und sich mit dem Salzwasser im Behälter mischen, aber unter allen Umständen wird der Behälter in einer solchen Höhe angebracht, daß das Niveau der Flüssigkeit im Behälter 2—3 cm höher steht als das Niveau der Blase; ferner ist zu bemerken, daß der Boden des Behälters so groß war, daß bei einer Blasenkontraktion nur eine unbedeutende Drucksteigerung entstand.

Die geringen spontanen rhythmischen Kontraktionen, welche die oben genannten isolierten Blasenstreifen ausführten, deuteten an, daß solche Kontraktionen möglicherweise rhythmische Blasenvolumenänderungen verursachen könnten; um aber solche geringen und schnell vorübergehenden Bewegungen zu registrieren, ist es notwendig, daß reichliche Passage im Katheter vorhanden ist; es wurde u. a. daher ein so weiter Glaskatheter angewandt, wie einigermaßen leicht beim männlichen Kaninchen eingeführt werden kann, nämlich 6,5 mm auswendiger Diameter. Das Resultat dieser Versuche ist in Tabelle 1 (s. S. 136) aufgeführt.

Tabelle 1 zeigt, daß Ephedrin regelmäßig ohne Wirkung auf die Blase ist (Abb. 3), daß Mecodrin fast regelmäßig eine bedeutende Kontraktion hervorruft (Abb. 3), und, wie erwartet, ergibt Azetylcholin Kontraktion (Abb. 4), und Adrenalin Dilatation (Abb. 5).

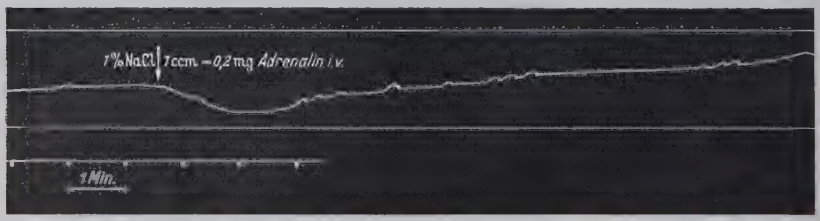


Abb. 5. Kaninchen Nr. 124. Intakte Blase in situ. Registrierung des Blasenvolumens. 0,2 mg Adrenalin intravenös gibt mäßige und kurzwierige Dilatation.

B. Lokale Anwendung.

In Verbindung mit der Tatsache, daß β-Phenylisopropylamin beim Menschen zum Teil unverändert mit dem Urin ausscheidet [I. Gad, E. Jacobsen und V. Larsen (10)], war es von Interesse zu konstatieren, daß β-Phenylisopropylamin nicht imstande ist, lokal, durch das Epithel die Blasenmuskulatur zu beeinflussen. Da, wie aus Tabelle 2 hervorgeht, eine solche Wirkung nicht vorlag, war es natürlich zu beweisen, daß nicht einmal so starke und zugleich so niedrig-molekulare Pharmaka wie Azetylcholin und Adrenalin imstande sind, durch das Blasenepithel zu wirken. Durch intravenöse Anwendung von allen den gleichen Stoffen konnte dargelegt werden, daß die Versuchsaufstellung wirklich geeignet war, eine solche Wirkung zu enthüllen.

Um reine Versuche auszuführen, d. h. das Medikament in einer gegebenen Konzentration in der Blase anzubringen und es dann wieder zu entfernen, ehe ein anderes benutzt wurde, wurde folgende Methode ausgearbeitet, die – auch ihres Prinzips wegen – im folgenden beschrieben werden soll:

Die Durchspülungsmethode.

Nach dieser Methode ist es möglich, während Urethannarkose ein kontinuierliches Durchspülen mit körperwarmem Salzwasser der Blase des männlichen Kaninchens in situ und ohne Laparotomie vorzunehmen; da gleichzeitig die Volumenänderungen der Blase registriert werden, kann man, im großen gesehen, den Füllungszustand der Blase kontrollieren und in Übereinstimmung hiermit den Druck in der Blase willkürlich regulieren.

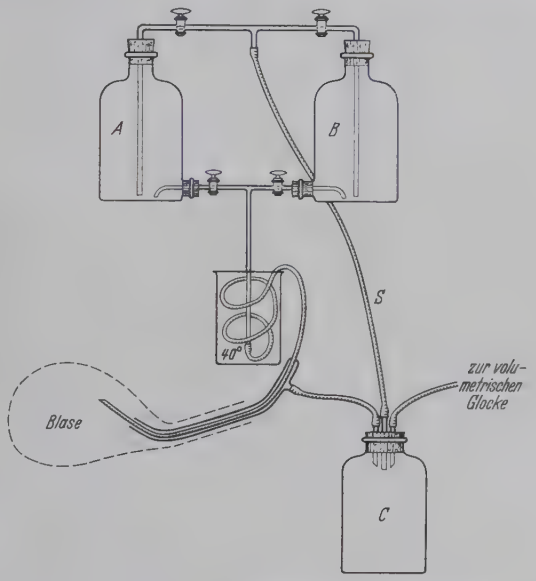


Abb. 6. Apparatur zur Durchspülungsmethode, skizziert.

Wenn ein passender Druck und infolgedessen ein passender Füllungsgrad hergestellt ist, kann man ohne Druckänderung zur Durchspülung mit Salzwasser + Medikament übergehen und nach einer gewissen Zeit wieder zu reinem Salzwasser. Die Volumenregistrierung wird dann zeigen, ob das angewandte Medikament z. B. blasenkontrahierend gewirkt hat.

Die Ausführung (siehe Abb. 6!)

Zwei ganz gleich eingerichtete Vorratsflaschen *A* und *B* (z. B. je 1 Liter) werden z. B. 40 cm über dem Niveau der Blase angebracht; sie sind tubuliert, und aus jeder derselben kann Salzwasser bzw. Salzwasser mit Medikament vom Tubus der Flasche zur gleichen T-Röhre laufen, die mit einer Erwärmungsspirale verbunden ist, die in einem Wasserbad von 40° sitzt; in jeder der Flaschen ist ein dicht schließender durchbohrter

Pfropfen mit einer Röhre angebracht, die fast bis zum Boden der Flasche reicht; das unterste Ende der Röhren wird im gleichen Niveau angebracht; die beiden Röhren sind oben mit derselben T-Röhre verbunden, an deren 3. Zweig ein langer Gummischlauch (*S*) angebracht ist.

Durch die Urethra des Kaninchens wird ein weiterer Glaskatheter in die Vesica eingeführt (durch welchen der Urin aus der Blase entfernt wird) und es wird Ligatur über penis zur Fixierung des Katheters gelegt; durch den Katheter wird ein engerer Guttapercha- oder Kautschukkatheter eingeführt, der 3—4 cm weiter in die Blase reicht; der enge Katheter wird mit der Wärmespirale verbunden, und hierdurch läuft die Flüssigkeit also in die Blase. Durch Anbringen der Vorratsflaschen in passender Höhe kann man eine geeignete Menge (etwa 10 ccm) einlaufen lassen je Minute, da der Widerstand faktisch allein in dem engen inneren Katheter zu finden ist, während Wärmespirale usw. viel weitere Röhren sind. Die Flüssigkeit verläßt die Blase wieder durch die Passage zwischen den beiden Kathetern und läuft von hier durch eine verhältnismäßig weite Röhre (z. B. 3 mm innerer Diameter), die einige cm unter dem Pfropfen der etwa 1 Liter großen Aufsammlungsflasche *C* mündet. Die Mündung dieser Röhre ist unten als Ablaufniveau bezeichnet worden. Wenn die Passage zwischen den beiden Kathetern hinreichend weit ist, so wird (mit der vorliegenden verhältnismäßig geringen Durchspülungsschnelligkeit) der Druck in der Blase hauptsächlich durch die Lage des Ablaufniveaus im Verhältnis zur Blase bestimmt sein (was in der Praxis bedeutet: durch die Höhenanbringung der Aufsammlungsflasche im Verhältnis zur Blase). Im Pfropfen der Aufsammlungsflasche werden außerdem zwei Glasröhren angebracht, von denen die eine mit dem genannten Schlauch (*S*) verbunden wird, die andere mit einer registrierenden volumetrischen Glocke.

Wenn man nun eine Klemme auf den Ablauf von entweder *A* oder *B* setzt, kann man die Flüssigkeit aus der anderen laufen lassen; die Flüssigkeit läuft dann durch die Blase und hinunter in die Aufsammlungsflasche, während ein (fast) entsprechender Kubikinhalt Luft durch den Schlauch *S* aus der Flasche *C* hinauf in die betreffende Vorratsflasche läuft. Nur wenn ein Teil der Flüssigkeit sich in der Blase z. B. anhäuft, wird Luft aus der volumetrischen Glocke in die Vorratsflasche hinaufgesaugt; die Glocke registriert also die Füllung und Leerung der Blase.

Die Resultate dieser Versuche gehen aus Tabelle 2 hervor. Hieraus ersieht man, daß man keine Wirkung durch lokale Anwendung hervorrufen kann.

Diskussion.

Die Versuche zeigen, daß Kaninchenblasen-Längsstreifen, aufgehängt wie skizziert in warmer Ringerlösung, kleine, aber deutliche rhythmische Kontraktionen ausführen. Durch Katheterversuche mit der Blase in situ

Tabelle 2. Lokale Anwendung (nebst Kontrollversuchen mit intravenöser Injektion).

	Kaninchen Nr.	Benutztes Medikament	Wirkung auf die intakte Blase in situ	Ungefährer Blaseninhalt vor der Injektion
	123	β-Phenylisopropylaminsulfat 1:100000	Keine	Mehr als 60 ccm
	124	„ 1: 50000	„	Weniger als 66 ccm
	151	„ etwa 1: 2000	„	Niedriger Blasendruck
	125	Ephedrin 1:50000	„	
	125	„ 1:50000	Kaum Wirkung	
	123	Azetylcholin 1:100000	„ „	Mehr als 84 ccm; Blasendruck etwa 6 cm H_2O
	126	„ 1:20000	Keine	18 ccm
	124	Adrenalin 1:500000	„	Weniger als 50 ccm
Kontrollversuche	126	0,2 mg Azetylcholin i. v.	„	Etwa 54 ccm
	126	0,4 „ „ „ „	Kontraktion $\sim$ 16 ccm	„ 53 „
	123	1 „ „ „ „	Kontraktion $\sim$ 10 ccm	Mehr als 96 ccm; etwa 6 cm Druck
	125	0,08 „ Adrenalin i. v.	Kaum Wirkung	
	126	0,10 „ „ „ „	Keine	Etwa 28 ccm
	123	0,2 „ „ „ „	„	Mehr als 94 ccm: etwa 6 cm Druck
	124	0,2 „ „ „ „	Dilat. $\sim$ etwa 10 ccm; schnell abnehmend	Weniger als 23 ccm; etwa 2 cm Druck
	127 Katze	0,2 „ „ „ „	Dilat. $\sim$ 5 ccm	Etwa 30 ccm
	127 Katze	0,5 „ „ „ „	„ $\sim$ 8 ccm	„ 25 „
	125	20 mg Ephedrin hydrochl. i. v.	Keine	
	126	30 „ „ „ „ „	„	„ 35 „

können in scheinbarer Übereinstimmung hiermit — mittels eines fein anzeigenden Volumenregistrators — kleine normale spontane Blasenvolumenänderungen registriert werden, die jedoch hier nicht wiedergegeben sind; diese haben in einigen Fällen ihre Ursache deutlich in motorischer Unruhe des Tieres, da motorische Unruhe synchron mit den genannten Änderungen konstatiert werden kann; in anderen Fällen beruhen sie unserer Meinung nach auf Coecumkontraktionen, aber einige Blasenvolumenänderungen können wohl von kleinen Kontraktionen der Blase selbst hervorgerufen sein, was man jedoch nicht mit Sicherheit behaupten kann. Analog hiermit kann das konstatierte Aufhören von kleinen spontanen Blasenvolumenänderungen nach Mecodrin-Medikamentierung von Darmlähmung herrühren. Es ist berechtigt zu fragen, ob die Blasenvolumenänderungen, welche medikamentell hervorgerufen und mit der größeren volumetrischen Glocke registriert sind, in Wirklichkeit ihre Ursache in einer Blasenwirkung haben; sie könnten ja sekundärer Natur sein, auf einer Wirkung auf den Darm beruhen; hiergegen spricht jedoch deutlich die gute Übereinstimmung zwischen den Versuchen mit isoliertem Blasenstreifen und den Versuchen mit intakter Blase in situ sowie z. B. der Umstand, daß wir, obgleich sowohl Adrenalin wie auch β-Phenylisopropylamin wie bekannt hemmend auf den Darm wirkt, durch die Blasenversuche diametral entgegengesetzte Wirkung dieser beiden Stoffe finden.

Der normale Blasendruck scheint etwa 2 cm (Wasserdruck) zu sein, und die Versuche deuten darauf hin, daß dies bei Blasenversuchen mit Kaninchen in Betracht gezogen werden muß; bei wesentlich größerem Druck wird die Blase ausgedehnt und nimmt eine beständig größere Wassermenge auf, und es scheint, als ob man eine solche ausgedehnte Blase sehr schwer dazu bringen kann, sich zu kontrahieren; bei einem vereinzelten Versuch mit einer Katze mußte man dagegen mit einem etwas größeren Blasendruck arbeiten, um überhaupt die Blase der Katze mit dem offenbar größeren Tonus dazu zu bringen, Flüssigkeit in sich aufzunehmen.

Die Versuche zeigen, daß die Kaninchenblase ein träge reagierendes Organ ist; von den Stoffen, von welchen sie überhaupt beeinflußt wird, sind offenbar bedeutende Dosen erforderlich; selbst von Adrenalin und Azetylcholin müssen oft große, ja subletale Dosen intravenös angewandt werden, um Tonusänderung hervorzurufen, und diese Tonusänderung scheint durchaus weder totale Leerung noch extreme Füllung der Blase mit sich geführt zu haben. Mit Bezug auf die Adrenalinwirkung sind die Fälle, wo wir keine Wirkung beobachten, in Übereinstimmung mit Elliotts Versuchen, und die Fälle, wo wir Dilatation beobachten, sind in Übereinstimmung mit Abelin und Streuli und Young und Macht. Obgleich Adrenalin also ganz deutlich Blasenerschlaffung bei Kaninchen hervorrufen kann, ist die Annahme, daß Ephedrin dasselbe erzielen und sogar langwierigere Wirkung ergeben kann, nicht bestätigt worden, indem Ephedrin

in angemessenen Dosen vollständig ohne Wirkung war. Es sei bemerkt, daß Macht (18) sogar gefunden hat, daß Ephedrin eine Kontraktion der Kaninchenblase (isolierten Blasenstreifens) gibt. Was Mecodrin betrifft, so hat dieses Amin in den gleichen Dosen wie Ephedrin ebenfalls keine Adrenalinwirkung, sondern ergibt im Gegenteil Kontraktion der Kaninchenblase gleich wie Azetylcholin, sogar sehr regelmäßig.

Wie aus den Tabellen zu ersehen ist, ist die Tonuserhöhung der Blase langwierig in Übereinstimmung damit, daß Mecodrin beim Kaninchen verhältnismäßig langsam zersetzt wird [E. Jacobsen und I. Gad (11)], so daß sich die langwierige kontrahierende Wirkung als eine Folge einer andauernden starken peripheren Wirkung von im Blute zirkulierendem β-Phenylisopropylamin erklären läßt.

Zusammenfassung und Konklusion.

Wir haben die Wirkung von Ephedrin und β-Phenylisopropylamin auf die Blasenmuskulatur des Kaninchens untersucht, teils auf isoliertem Blasenstreifen, teils auf intakter Blase in situ. Die Wirkung ist mit der Wirkung von Adrenalin und Azetylcholin verglichen worden. Die beiden Untersuchungsreihen ergeben das gleiche Resultat.

Die blasenerschlaffende Wirkung von Adrenalin und die kontrahierende Wirkung von Azetylcholin ist verhältnismäßig moderat, selbst bei Anwendung von subletalen Dosen.

Ephedrin erweist sich in den angewandten Dosen (bis auf 30 mg je Tier) als wirkungslos auf die Kaninchenblase. In den gleichen Dosen ergibt β-Phenylisopropylamin kräftige und langwierige Blasenkontraktion, welche im allgemeinen die Wirkung übersteigt, die man mit Azetylcholin erzielen kann. In isodynamischen Dosen (mit Bezug auf die Blutdruckwirkung) ruft Adrenalin eine deutliche Erschlaffung hervor.

Dieser pharmakodynamische Unterschied zwischen diesen drei nahe miteinander verwandten Stoffen ist bemerkenswert.

Eine Methode, welche Durchspülung der Blase gleichzeitig mit einer Registrierung von Blasenvolumenänderungen ermöglicht, wird beschrieben. Keiner der vier untersuchten Stoffe — Adrenalin, Azetylcholin, Ephedrin und β-Phenylisopropylamin — hat irgendwelche Wirkung bei lokaler Anwendung auf die Blasenschleimhaut.

Insoweit diese Untersuchungen auf Menschen überführt werden können, muß die Wirkung des Ephedrins und des β-Phenylisopropylamins auf die Blasenmuskulatur, hierunter auch eine eventuelle Wirkung bei der Behandlung von Enuresis nocturna, einem anderen Mechanismus zuzuschreiben sein, als einer langwierigen Adrenalinwirkung im Gegensatz zu dem, was bisher von den meisten Verfassern angenommen wurde.

Literatur.

1) Abelin: Z. Biol. **69**, 391 (1919). — 2) Ådler, L.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **83**, 252 (1918). — 3) Balyeat, R. M., and Rinkel, H. J.: J. amer. med. Assoc. **98**, 1545 (1932). — 4) Boston, L. N.: Med. Times, New York **56**, 94 (1928). — 5) Brookfield, R. W.: Lancet II, 1119 (1935). — 6) Brookfield, R. W.: Ebenda II, 623 (1937). — 7) Edmunds, Ch. W., and G. B. Roth: J. Pharmacol. (Am.) **15**, 189 (1920). — 8) Elliott, T. R.: J. Physiol. (Brit.) **31**, 59 (1904). — 9) Elliott, T. R.: Ebenda **35**, 367 (1906—1907). — 10) Gad, I., E. Jacobsen og V. Larsen: Ugeskr. Læg. (Dän.) **103**, 965 (1941). — 11) Jacobsen, E., u. Inger Gad: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 34 (1940). — 12) Jacobsen, E., J. Tind-Christensen, F. Eriksen og J. Hald: Scand. Arch. Physiol. **79**, 258 (1938). — 13) Jørgensen, Konrad S.: Ugeskr. Læger (Dän.) **1941**, Nr. 30, S. 968. — 14) Langley, J. N.: J. Physiol. (Brit.) **27**, 237 (1901). — 15) Langley, J. N., and Anderson: Ebenda **19**, 79 (1895). — 16) Lewandowsky, M.: Zbl. Physiol. **14**, 433 (1901). — 17) Lundsgaard, E.: Lærebog i Fysiologi, København 1937. — 18) Macht, David I.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **143**, 329 (1929). — 19) Molitch, Matthew and Samuel Poliakoff: Arch. Pediatr. (Am.) **54**, 499 (1937). — 20) Muntner, S.: Schweiz. Med. Wschr. **1939**, S. 1333. — 21) Parkhurst, L. E.: Brit. med. J. **1930**, II, S. 1103. — 22) Streuli, H.: Z. Biol. **66**, 167 (1916). — 23) Wright, S.: Applied Physiology, Oxford 1936. — 24) Young, H. H., and D. I. Macht: J. Pharmacol. (Am.) **22**, 329 (1924). — 25) Ørkild, Ejnar: Ugeskr. Læg. (Dän.) **99**, 851 (1937).

Aus dem Physiologisch-chemischen Institut der Universität Rostock.
(Direktor: Prof. Dr. P. Holtz.)

Über das Vorkommen der Dopadecarboxylase im Pancreas.

Von

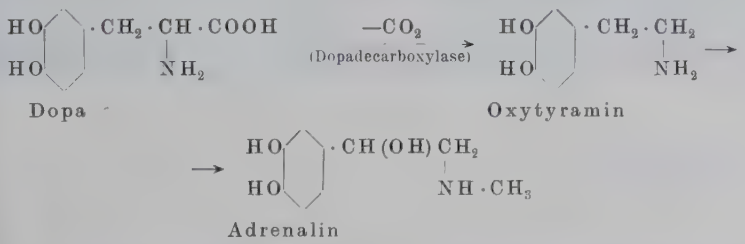
Peter Holtz und **Karl Credner,**

unter Mitarbeit von **Christel Strübing.**

Mit 6 Textabbildungen (8 Einzelbildern).

(Eingegangen am 17. Dezember 1941.)

Die Wirkung der Dopadecarboxylase besteht darin, die Aminosäure Dioxyphenylalanin (Dopa) durch Decarboxylierung in Oxytyramin überzuführen (1). Auf diese Weise wird aus einer pharmakologisch unwirksamen Aminosäure ein pressorisch wirksames Amin, das nicht nur seinem pharmakologischen Verhalten nach, sondern auch auf Grund seiner chemischen Konstitution nahe Verwandtschaft zum Adrenalin aufweist, wie ein Blick auf die nebenstehenden Formelbilder zeigt:



Dopa — Oxytyramin — Adrenalin

Es lag deshalb die schon früher von uns geäußerte Vermutung nahe, die Dopadecarboxylase sei ein für die biologische Adrenalinbildung wichtiges Hilfsferment (2).

Würde das zutreffen, so müßte die Forderung gestellt werden, daß das Ferment bei allen Tierarten, die zur Adrenalinbildung befähigt sind, nachweisbar sei. Diese Forderung ist bisher nicht erfüllt. Die Dopadecarboxylase wurde von uns bei Meerschweinchen, Kaninchen, Schwein, Hammel und Huhn nachgewiesen. Sie kommt hier besonders reichlich in der Niere vor, daneben auch in der Leber. Beim Meerschweinchen als einziger Tierart ist das Ferment auch im Darmgewebe, vornehmlich im Dünndarm vorhanden (3). Bei anderen Tierarten jedoch, wie z. B. bei Rind, Ratte, Katze und Hund war es nicht möglich, Dopadecarboxylase in den entsprechenden Organen aufzufinden.

Es hätte somit die Hypothese, die Adrenalinbildung im Tierkörper erfolge unter Mitwirkung von Dopadecarboxylase, aufgegeben oder aber die

Annahme gemacht werden müssen, daß die letztgenannten Tierarten, bei denen der Fermentnachweis nicht möglich war, ihr Adrenalin auf einem anderen Wege bildeten. Wir haben deshalb noch einmal den Versuch unternommen, das Ferment auch da nachzuweisen, wo es bisher nicht gelungen war.

1. Manometrischer und biologischer Nachweis der Dopadecarboxylase.

a) Der Nachweis der Fermentwirkung erfolgte in unseren früheren Untersuchungen nicht nur auf Grund der blutdrucksteigernden Wirkung des fermentativ gebildeten Oxytyramins im Blutdruckversuch, sondern auch mit manometrischen Methoden, indem die aus der Aminosäure enzymatisch abgespaltene Kohlensäure in der Warburg-Apparatur gemessen wurde. Die Versuche wurden unter Pufferung mit Phosphat bei p_H 7,4 angesetzt. Fermentlösung und Substrat wurden von Anfang an im Hauptraum des Versuchsgefäßes zusammengebracht und nach stattgefundenem Temperaturausgleich, d. h. nach etwa 10 Minuten im Wasserthermostaten bei geschlossenen Manometerhähnen geschüttelt. Am Ende des Versuchs wurde Schwefelsäure eingekippt, um die absorbierte Kohlensäure freizumachen. — Wir haben diese Versuche zunächst mit einer etwas abgeänderten Methodik wiederholt. Die Abänderung bestand im wesentlichen darin, daß 1. Ferment und Substrat nicht von vornherein, sondern erst nach erfolgtem Temperaturausgleich und bei geschlossenen Manometerhähnen zusammengebracht wurden; so erfaßten wir den Gesamtverlauf des Versuchs quantitativ, auch die ersten 10 Minuten, die bei der früheren Anordnung für die Messung mehr oder weniger verloren gingen; 2. daß die Pufferung nicht auf das schwach alkalische p_H 7,4 erfolgte, sondern auf das schwach saure p_H 6,5. Bei diesem p_H tritt der größte Teil der durch Decarboxylierung abgespaltenen Kohlensäure frei in den Gasraum über, womit dann die Möglichkeit gegeben ist, den zeitlichen Ablauf der Reaktion kontinuierlich zu verfolgen *.

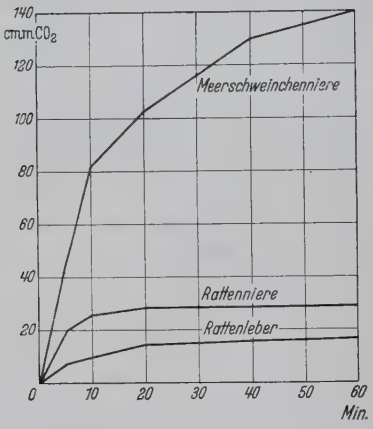


Abb. 1. Decarboxylierung von l-Dopa durch Meerschweinchen- und Rattenorgane. Warburgapparatur. Versuchsansatz: 1,5 ccm Organextrakt (m/20 Phosphat p_H 6,5) + 0,5 ccm (3 mg) l-Dopalösung. 37°. H_2-Atmosphäre.

Die Abb. 1 erläutert einen Versuch mit einem Fermentpräparat aus Meerschweinchenniere, dem fermentreichsten Organ. Die kurven-

* Ein Teil der Versuche wurde im Kaiser Wilhelm-Institut für Zellphysiologie in Dahlem ausgeführt. Für die mir gewährte Gastfreundschaft und Beratung spreche ich Herrn Prof. Warburg meinen herzlichsten Dank aus. Holtz.

mäßige Darstellung des Reaktionsablaufs läßt erkennen, daß die enzymatische Reaktion eine hohe Anfangsgeschwindigkeit besitzt und bald zu Ende kommt: in den ersten 15 Minuten wird mehr Kohlensäure abgespalten als während der gesamten sich nun anschließenden Versuchszeit. Auf die Ursache für dieses Verhalten soll hier nicht eingegangen werden; es soll nur darauf hingewiesen werden, daß sie nicht auf einer Erschöpfung der angebotenen Substratmenge beruht. Denn aus den im Versuch dem Ferment zur Verfügung gestellten 3 mg Dopa hätten mehr als 300 cmm CO_2 freigemacht werden können.

Mit dieser Methodik gelingt es nun, auch in den Organen der Tierarten Dopadecarboxylase nachzuweisen, in denen der Fermentnachweis bisher nicht gelungen war. In der Abb. 1 sind die entsprechenden Kurven

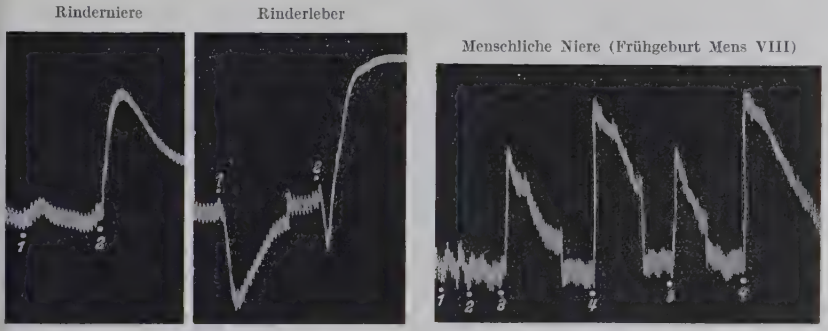


Abb. 2. Dopadecarboxylase in Rinder- und Menschenorganen.

1 = 1 ccm Organextrakt
2 = 1 ccm Organextrakt + Dopa
(5 Stunden bei 37°)

1 = 1 ccm Markextrakt
2 = 1 ccm Rindenextrakt
3 = 1 ccm Markextrakt + Dopa
4 = 1 ccm Rindenextrakt + Dopa
(1 Stunde bei 37°)

für die Kohlensäureabspaltung durch Rattenniere- und -leber aufgezeichnet. Sie liegen weit tiefer als die CO_2-Kurve der Meerschweinchenniere. Der geringere Fermentgehalt der Organe dieser Tierarten ist uns offensichtlich bei der früher von uns angewandten Methodik entgangen, zumal das p_H-Optimum für die Dopadecarboxylase entgegen unseren früheren Angaben nicht bei p_H 7,4, sondern bei p_H 6,5 zu liegen scheint, wie der Blutdruckversuch der Abb. 4 zeigt.

b) Der biologische Nachweis der Aminbildung im Blutdruckversuch bestätigt das Ergebnis der manometrischen Untersuchungen.

Methodik: Die tierischen Organe wurden, soweit sie nicht von Laboratoriumstieren stammten, frisch vom Schlachthof bezogen und sofort verarbeitet. Die menschlichen Organe kamen spätestens 4—5 Stunden nach dem Tode zum Versuch. Sie stammten aus dem Pathologischen Institut bzw. aus der Frauenklinik von Frühgeburten.

Die Organe wurden nach der in früheren Arbeiten angegebenen Methodik zu Phosphatextrakten verarbeitet und in sauerstofffreier Atmosphäre mit der Aminosäurenlösung unter Toluol angesetzt. Während wir früher 5 ccm Organextrakt mit 5 ccm Aminosäurenlösung versetzten, gaben wir in diesen Versuchen zu je 5 ccm Organextrakt nur 1 ccm entsprechend konzentrierterer Aminosäurenlösung — 3–6 mg l-Dopa oder 10–20 mg l-Histidin —, um die Fermentlösung möglichst wenig zu verdünnen. Nach verschieden langem Aufenthalt bei 37° wurden die Versuchsansätze im Blutdruckversuch an der mit Pernocton narkotisierten Katze untersucht.

Die Abb. 2 zeigt als Beispiel Versuche mit Rinderniere und -leber, sowie mit menschlicher Niere. In den Versuchen mit menschlicher Niere wurde Rinden- und Marksubstanz getrennt untersucht: die Rinde ist fermentreicher. In späteren Abbildungen finden sich Versuchsbeispiele für die entsprechenden Organe anderer Tierarten. In allen Fällen ist die unwirksame Aminosäure in das blutdrucksteigernde Amin — Oxytyramin — übergeführt worden.

In einer kürzlich erschienenen Arbeit von Bing (4) und von Bing und Zucker (5), die auf unseren früheren Untersuchungen über den Nachweis der Dopadecarboxylase fußt, wird nach Bestätigung unserer Ergebnisse gezeigt, daß auch bei künstlicher Durchströmung von Katzen- und Menschennieren mit dopahaltiger Flüssigkeit in der Durchströmungslösung eine pressorisch wirksame Substanz auftritt, die sich wie Oxytyramin verhält. In schon weiter zurückliegenden manometrischen Untersuchungen mit Meerschweinchenniere bestätigte Blaschko (6) unsere bisherigen Befunde.

2. Nachweis der Dopadecarboxylase im Pancreas.

Auch mit der im vorhergehenden erläuterten Methodik war es in einigen von sehr zahlreichen Versuchen mit Rinder-, Ratten-, Hunde- und Katzenorganen nicht möglich, die Dopadecarboxylase in der Niere oder Leber nachzuweisen. Eine daraufhin unternommene systematische Untersuchung aller überhaupt in Frage kommender Organe hatte das Ergebnis, daß außer Niere, Leber und Darm — letzterer nur beim Meerschweinchen — auch das Pancreas Dopadecarboxylase enthalten kann.

Manometrische Versuche zeigen, daß der zeitliche Verlauf der enzymatischen Reaktion mit demjenigen übereinstimmt, den man z. B. in Versuchen mit Nierenextrakten beobachtet: hohe Anfangsgeschwindigkeit und schnelles Verebben der Fermentwirkung. — Aus der kurvenmäßigen Darstellung der Kohlensäureabspaltung durch Meerschweinchenorgane geht hervor, daß Niere ungefähr dreimal so fermentreich ist wie Pancreas (Abb. 3). In mehreren Versuchen fanden wir andere Relationen der Wirksamkeit; gewichtsgleiche Mengen Pancreasgewebe konnten 50% der Wirksamkeit der Niere erreichen. Auch in Versuchen mit anderen Organen und Tierarten machten wir wiederholt die Beobachtung, daß der relative Fermentgehalt bzw. die relative enzymatische Wirksamkeit

der einzelnen Organe individuellen Schwankungen unterliegt. Unser Versuchsmaterial ist jedoch noch zu gering, als daß wir diese vielleicht auf Fermentverschiebungen beruhenden Schwankungen als gesetzmäßig bestimmten körperlichen Zuständen, wie z. B. einer bestehenden Schwangerschaft oder anderen hormonalen Einflüssen zugeordnet, ansprechen könnten.

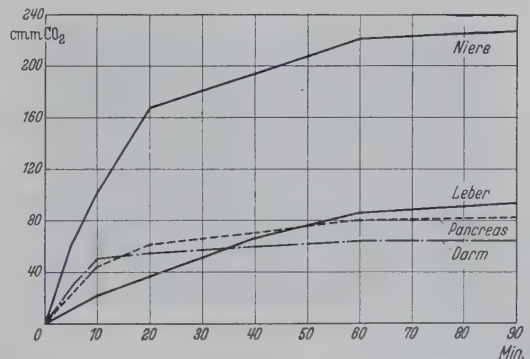


Abb. 3. Decarboxylierung von l-Dopa durch Meerschweinchenorgane. Warburg-Apparatur. Versuchsansatz: 2 ccm Organextrakt + 3 mg l-Dopa.

Die Tabelle 1 enthält die Ergebnisse einiger manometrischer Versuche mit dem Pancreas anderer Tierarten.

Tabelle 1. Manometrische Messung der CO_2-Abspaltung aus l-Dopa durch Pancreas verschiedener Tierarten.

Warburg-Apparatur: Phosphatextrakte aus Pancreas 1 : 5 m/20 p_H 6,5. Versuchsansatz: 2 ccm Extrakt + 3 mg Dopa.

Zeit:	10′	20′	40′	60′
Tierart	cmm CO_2			
Hund	17	24	33	36
Katze	9	14	22	28
Schwein	16	20	28	29
Meerschwein (Pancreas)	38	55	60	64
„ (Niere)	88	129	175	210

Der biologische Nachweis der Dopadecarboxylase des Pancreas im Blutdruckversuch wird mitunter dadurch erschwert, daß der rohe Organextrakt starke Blutdrucksenkungen veranlaßt, die nicht nur auf dem Gehalt an Acetylcholin und Histamin zu beruhen scheinen, sondern wahrscheinlich in der Hauptsache durch Kallikrein bedingt sind.

Das trifft besonders für Versuche mit Schweinepancreas zu. Der größte Teil der depressorischen Wirksamkeit läßt sich in solchen Fällen dadurch beseitigen, daß man das Trichloressigsäurefiltrat nach Entfernung der Trichloressigsäure durch Ausschütteln mit Äther und nach Ansäuern mit Salzsäure einige Minuten kocht.

Die Abb. 4 enthält einen Vergleichsversuch mit Meerschweinchenniere und -pancreas. Er entspricht dem manometrischen Versuch, der in Abb. 3 kurvenmäßig dargestellt ist. Der Blutdruckversuch zeigt, daß sowohl das aus der Niere als auch das aus Pancreas gewonnene Ferment bei p_H 6,5 wirksamer ist als bei p_H 7,4.

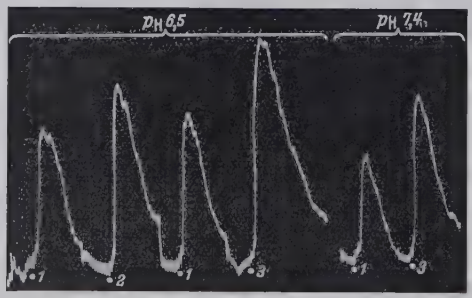


Abb. 4. Dopadecarboxylyse in Meerschweinchenniere und -pancreas. Einfluß des p_H.
1 = 0,5 ccm Pancreas + Dopa
2 = 0,25 ccm Niere + Dopa
3 = 0,5 ccm Niere + Dopa
(1 Stunde in mit Wasserstoff gefüllten Warburg-Gläsern bei 37° geschüttelt).

Die Abb. 5 zeigt, daß auch Rinderpancreas Dopadecarboxylase enthält, und daß Katzenpancreas fermentreicher als Katzenniere sein kann.

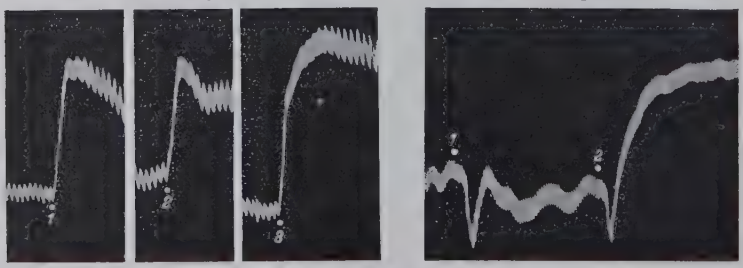


Abb. 5. Dopadecarboxylase in Katzen- und Rinderpancreas.
1 = 0,5 ccm Pancreas + Dopa
2 = 1,0 ccm Niere + Dopa
3 = 1,0 ccm Pancreas + Dopa
(4 Stunden bei 37°)
1 = 1,0 ccm Pancreas
2 = 1,0 ccm Pancreas + Dopa

Positive Ergebnisse wurden, den manometrischen Versuchsergebnissen entsprechend, außerdem mit Hunde- und Schweinepancreas erhalten.

Mehrere Versuche mit frisch gewonnenem menschlichen Duodenalsaft, die eine Beantwortung der Frage ermöglichen sollten, ob das aminbildende Ferment im exkretorischen oder inkretorischen Anteil der Drüse

gebildet werde, hatten ein negatives Ergebnis. In noch nicht veröffentlichten Untersuchungen von Hans Büchsel über die Aminoxydase des Pancreas wird demgegenüber gezeigt, daß das aminabbauende Ferment wenigstens in geringen Mengen auch im Duodenalsaft nachweisbar ist.

3. Histidindecarboxylase des Pancreas.

Läßt man Pancreasextrakte, die Dopa zu Oxytyramin decarboxylieren, auf Histidin einwirken, so wird mit einer einzigen Ausnahme keine Spur Histamin gebildet. Diese Ausnahme ist das Meerschweinchenpankreas (Abb. 6). Das negative Ergebnis der Versuche mit dem Pancreas anderer Tierarten ist ein weiterer Hinweis auf die Substratspezifität der Aminosäurendecarboxylasen, die wir in einer früheren Arbeit auch auf Grund anderer Befunde und mit anderen Methoden nachgewiesen haben (7). — Das Meerschweinchen ist die an Aminosäurendecarboxylasen reichste Tierart. Auf der einen Seite sind Niere und Leber bei ihm fermentreicher als bei anderen Tierarten, andererseits enthalten Meerschweinchendarm und -pancreas Decarboxylasen, die bei anderen Tierarten in den entsprechenden Organen überhaupt fehlen.

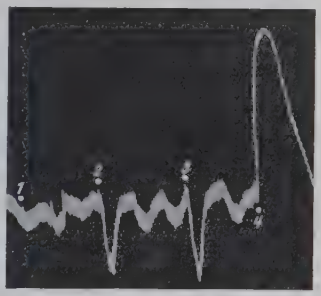


Abb. 6. Histidindecarboxylase im Meerschweinchenpancreas.

1 = 1,0 ccm Pancreas
2 = 1,0 ccm Pancreas + Histidin (10 mg l-Histidin auf 5,0 ccm Extrakt)
3 = 1,5 ccm Pancreas + Histidin (wie 2)
4 = 0,5 Pancreas + Dopa (6 mg l-Dopa auf 5,0 ccm Extrakt)
(6 Stunden bei 37°).

Bemerkungen zu den Versuchsergebnissen.

Im Jahre 1902 isolierte Emerson (8) aus Pancreasbrei, der mehrere Tage lang unter aseptischen Bedingungen der Autolyse überlassen worden war, Tyramin. Die Ausbeute an Tyramin wurde durch Zusatz von Tyrosin erhöht. Heinsen (9) hat diese Versuche später mit dem gleichen Resultat wiederholt. Sie würden somit einen Hinweis geben auf eine im Pancreas vorhandene Tyrosindecarboxylase.

In unserer Arbeit „Über Tyraminbildung im Organismus" (10) haben wir schon betont, daß wir unter Versuchsbedingungen, unter denen wir mit Nieren- und Lebergewebe eine Decarboxylierung von Tyrosin erhielten, Pancreasgewebe unwirksam fanden. Wir können jetzt hinzufügen, daß unter den Bedingungen, unter denen in der vorliegenden Arbeit Pancreas der verschiedensten Tierarten Dopa zu Oxytyramin decarboxyliert und Meerschweinchenpancreas auch Histidin in Histamin überführt, aus zugesetztem Tyrosin keine im Blutdruckversuch nachweisbaren Tyraminmengen entstehen. Ob die Tyrosindecarboxylase des

Pancreas sich in festerer Bindung an Gewebsbestandteile befindet als die Dopa- und Histidindecarboxylase oder die Aminosäurendecarboxylasen der Niere und Leber, und es deshalb vielleicht erst nach einer längerdauernden Autolyse des Gewebes zum Freiwerden wirksamer Fermentmengen kommt, müßte in besonderen Versuchen untersucht werden, um die jetzt noch bestehende Diskrepanz zu beseitigen.

Zusammenfassung.

1. In manometrischen Versuchen und im Blutdruckversuch an der Katze wird der Nachweis geführt, daß Pancreas von Meerschweinchen, Katzen, Hunden, Rindern und Schweinen das Ferment Dopadecarboxylase enthält. Im Meerschweinchenpancreas findet sich auch Histidindecarboxylase. Tyrosindecarboxylase konnte unter Versuchsbedingungen, unter denen der Nachweis in Niere oder Leber gelingt, und unter denen auch im Pancreas der Nachweis von Dopa- und Histidindecarboxylase erfolgte, nicht nachgewiesen werden.

2. Mit einer gegenüber der in früheren Arbeiten angewandten Methodik etwas abgeänderten Versuchsanordnung gelingt es, Dopadecarboxylase in Niere und Leber auch solcher Tierarten nachzuweisen, bei denen das bisher nicht möglich gewesen war. Auch menschliche Niere enthält das Ferment; die Nierenrinde ist fermentreicher als das Nierenmark.

3. Die schon früher von uns geäußerte Vermutung, die Dopadecarboxylase sei als Hilfsferment an der biologischen Adrenalinbildung beteiligt, erhält durch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit eine Stütze, indem gezeigt wird, daß bei sämtlichen bisher untersuchten Tierarten, die zur Adrenalinbildung befähigt sind, Dopadecarboxylase nachweisbar ist (Meerschweinchen, Kaninchen, Ratte, Schwein, Rind, Hammel, Huhn, Katze, Hund, Mensch).

Literaturverzeichnis.

1) Holtz, P., R. Heise u. K. Lüdtke: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 87 (1938); zusammenfassende Darstellung: P. Holtz: Erg. Physiol. usw. **44**, 230 (1941); „Die Methoden der Fermentforschung" **1941**, S. 2547. — 2) Holtz, P.: Naturw. **1939**, S. 724. — 3) Holtz, P., K. Credner u. A. Reinhold: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 688 (1939). — 4) Bing, R. I.: Amer. J. Physiol. **132**, 497 (1941). — 5) Bing, R. I., u. M. B. Zucker: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **46**, 343 (1941). — 6) Blaschko, H.: J. Physiol. (Brit.) **96**, 50 P (1939). — 7) Holtz, P., K. Credner u. H. Walter: Hoppe-Seylers Z. **262**, 111 (1939). — 8) Emerson, R. L.: Beitr. chem. Physiol. u. Path. **1**, 501 (1902). — 9) Heinsen, H. A.: Hoppe-Seylers Z. **245** 1 (1936). — 10) Holtz, P., u. H. Janisch: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **186**, 684 (1937).; Holtz, P.: Hoppe-Seylers Z. **251** 226 (1938).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Zagreb
und dem Pharmakologischen Laboratorium Kaštel A. G.

Über die Auslöschung der Adrenalinwirkung durch Ferro-Ion.

Von

I. Ivančević und P. Stern.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 5. Dezember 1941.)

Wir haben im Studium der Adrenalinumkehr bei mit Mutterkornalkaloiden vorbehandelten Tieren (1) die Meinung geäußert, daß es sich dabei um keine spezifische Sekalewirkung handelt, sondern daß dafür lediglich der Zustand des Erfolgsorgans verantwortlich ist. Auf dieselbe Weise haben wir die stark veränderte und abgeschwächte Adrenalinblutdruckreaktion bei mit Veratrin vergifteten Tieren gedeutet (2). Beide Alkaloide sind imstande, die tierische Muskulatur oder das tierische Gewebe in einen dem tätigen Zustand des Organs entsprechenden Zustand zu versetzen, wodurch dann die nachfolgende Adrenalinreaktion im obigen Sinne abläuft. Beide Alkaloide rufen in den tierischen Nebennieren histologische Veränderungen der Überbeanspruchung des Organs hervor welche nach Riml (3) den Zustand der tätigen Muskulatur zur Voraussetzung haben. Das Studium des Verhaltens anderer Krampfgifte in bezug auf die Adrenalinreaktion haben wir uns bereits zur weiteren Aufgabe gestellt. Inzwischen war unser Interesse der Auslöschung der Adrenalinwirkung durch Ferro-Ion gewidmet, wie dies W. Straub und K. Stefansson (4) experimentell schön dargestellt haben. Die Autoren haben gezeigt, daß ein durch Dauerinfusion von Ferro-Ion herbeigeführter Eisenzustand des Blutes 1,45 mg/kg/min die Wirksamkeit von bis zu 100 γ Adrenalin völlig aufhebt, während vorher 50 γ Adrenalin eine sehr deutliche und anhaltende Wirkung verursachen. Diese äußerst empfindlichen Reaktionen scheinen sich nach der Ansicht der Autoren nicht zwischen Eisen und Adrenalin abzuspielen, sondern am Erfolgsorgan, an den Gefäßen. Es besteht somit ein funktioneller Antagonismus zwischen Ferro-Ionlösungen und Adrenalin.

Im Anschluß an unsere früher erwähnten Arbeiten war es unmittelbar interessant zu sehen, wie die Infusion von Ferro-Ion sich zur inversen Adrenalinwirkung verhalten wird. Mit anderen Worten, wir fragten uns, welchen Effekt die Ferro-Ioninfusion auf die durch entsprechende Vorbehandlung mit Ergotamin herbeigeführte Adrenalinblutdrucksenkung haben wird.

Versuchsanordnung.

I. Als Versuchstiere nahmen wir Katzen im Gewicht von ungefähr 2500 g. Chloralose-Narkose mit 0.06 g per os. Künstliche Beatmung mit Starling-Pumpe. Blutdruck an der A. carotis gemessen. Die Injektionen von Ergotamintartrat (Sandoz) 1 mg/kg und Adrenalin erfolgten in die rechte V. femoralis, die Dauerinfusion von Ferro-Ionlösung 1 mg/kg/min vermittels der Dauerinfusionsspritze von Müller (5) in die linke V. femoralis. Zur Herstellung von Fe-Lösungen wurde das Ferrosulfat pro analysi Schering-Kahlbaum verwendet.

Abb. 1 illustriert am besten das Resultat unserer Prüfungen: 50 γ Adrenalin (bei 1) erzeugen bei der mit Ergotamin vorbehandelten Katze die übliche Umkehr der Blutdruckreaktion. Die bei 2 einbrechende Dauerinfusion von Ferro-Ion ändert oder stört die Adrenalinumkehr (50 γ bei 3) in keiner Weise. Diese Umkehr ist genau so vor sich gegangen wie die vorangehende vor Infusion von Ferro-Ion.

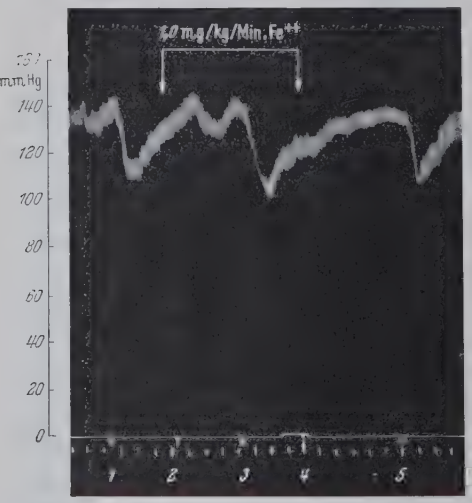


Abb. 1. Katze, 2200 g. Blutdruck in der rechten A. carotis (1 mg/kg Ergotamintartrat i. v.). Zeit 30 Sekunden. 1. 50 γ Adrenalin. 2. Beginn der Dauerinfusion von Fe++. 3. 50 γ Adrenalin 4. Dauerinfusion von Fe++ unterbrochen. 5. 50 γ Adrenalin.

Diese unveränderte Adrenalinumkehr nach Ferro-Ion stellte uns vor die Frage, ob nicht etwa das Ferro-Ion nur bestimmte Adrenalinfunktionen auslöscht und andere unbeeinflußt läßt.

Um an die Lösung dieser Frage herantreten zu können, bedienten wir uns des Langleyschen Präparates, das v. Brücke und einer von uns (6) modifizierten. Wie bekannt, entsteht nach Ausschaltung beider Vagi am Halse bei Kaninchen ein Kardiospasmus. Die Autoren konnten u. a. feststellen, daß die im Vagus verlaufenden öffnenden Fasern für die Kardia adrenergisch sind und doch parasympathische Fasern sind. Die cholinergischen Fasern für den Sphincter cardiae verlaufen im Splanchnicus und erzeugen nach Wegfall der öffnenden Vagusfasern den Kardiospasmus. Diese tonische Kontraktion des Schließmuskels des Mageneinganges oder kurz der Kardia erwies sich als geeignetes Objekt für unsere Untersuchung, besonders da man am Kaninchenpräparat gleichzeitig den Blutdruck leicht registrieren kann. Genaue technische Angaben sind in der Originalarbeit zu finden. Um das Lesen der Kurven zu erleichtern, müssen wir doch ganz

kurz vorausschicken, daß zur Messung und Registrierung des von der Schließmuskulatur der Kardia ausgeübten Druckes in Oesophagus ein weites Glasrohr eingeführt wurde, welches die Auffüllung mit Flüssigkeit

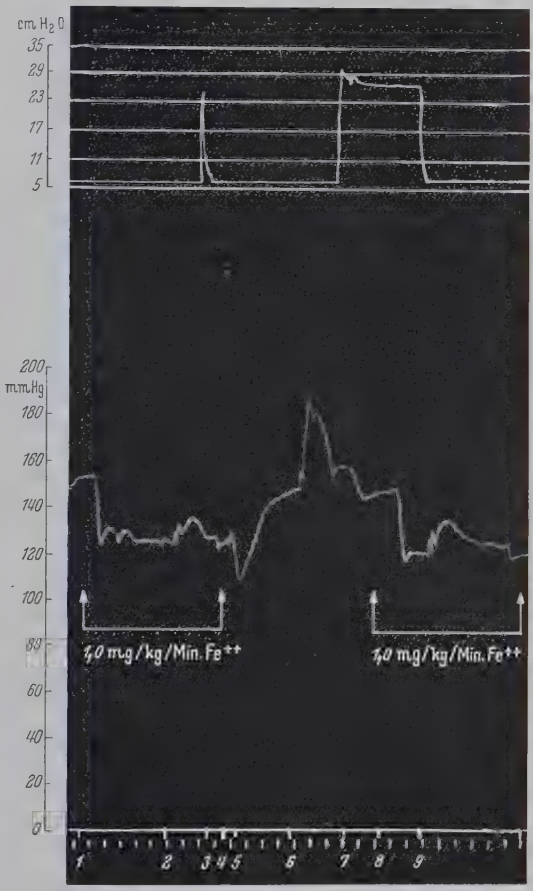


Abb. 2. Kaninchen, 2300 g, Blutdruck in der rechten A. carotis. Zeit 30 Sekunden. 1. Dauerinfusion des Fe++ beginnt. 2. 20 γ Adrenalin. 3. Normale Auffüllung. 4. Dauerinfusion abgebrochen. 5. Beide Vagi durchtrennt. 6. 20 γ Adrenalin. 7. Auffüllung. 8. Dauerinfusion beginnt. 9. 20 γ Adrenalin.

ermöglichte. Die Schwankungen des Flüssigkeitsspiegels wurden mit Hilfe des Pistonrekorders auf Kymographion übertragen.

Dieses Kardiapräparat ist ganz besonders empfindlich. Schon wenige γ Adrenalin lösen den Kardiospasmus. Die kleinste wirksame Dosis war

0.5 γ. Es können sogar Mengenunterschiede von 10% ausgewertet werden. Es wird aber nicht nur der durch Vagusdurchtrennung entstandene Kardiospasmus durch solch kleine Adrenalindosen gelöst, sondern auch der z. B. durch Pilocarpin hervorgerufene. Das Präparat kann somit in bezug auf Empfindlichkeit als für das Studium der äußerst empfindlichen Fe^{++}-Adrenalinreaktion sehr geeignet betrachtet werden. Überdies werden geprüft und registriert zwei Organe oder Organgebiete verschiedener Zustände: das eine in tonischer Kontraktion, d. h. im tätigen Zustand, das andere im niedrigen Tonus, im Ruhezustand.

II. Als Versuchstiere wurden Kaninchen im Gewicht von 2000 bis 2500 g in Urethannarkose verwendet. Den in Rückenlage aufgebundenen Tieren wurde eine Trachealkanüle eingeführt, wobei das oberste Stück der Trachea zur besseren Freilegung der Speiseröhre entfernt wurde. Die Blutdruckmessung erfolgte in der üblichen Weise aus der rechten Carotis, die Injektionen wurden durch eine eingebundene Kanüle in die V. femoralis gegeben. Die Dauerinfusion von Ferro-Ion erfolgte 1 mg/kg/min in die andere V. femoralis, und zwar mit der Müllerschen Spritze.

Auf Abb. 2 sind gleichzeitig eingetragen: in der oberen Kurve die Schließungen der Kardia und Auffüllungen (Aufstieg der Kurve), sowie die Öffnungen der Kardia (Abfall der Kurve) und Entleerungen in den Magen; in der unteren Kurve der Blutdruck. Bei 1 beginnt die Dauerinfusion von Fe^{++}. Die bei 2 erfolgte Adrenalininjektion von 20 γ wurde prompt ausgelöscht. Zur selben Zeit verhält sich die Kardia normal, d. h. nach der bei 3 erfolgten Auffüllung hält sie den hohen Druck nicht aus, sondern es kommt sofort zur Entleerung in den Magen. Bei 4 hört die Dauerinfusion auf. Bei 5 wurden beide Vagi durchtrennt. Die Kardia gerät in tonische Kontraktion. Die nun bei 6 verabreichten 20 g Adrenalin erzeugen bedeutende Blutdrucksteigerung. Bei 7 wieder Auffüllung. Kardia bleibt tonisch kontrahiert und hält den Flüssigkeitsdruck aus. Die weiteren 20 g Adrenalin, welche bei 9, und zwar während der schon bei 8 eingebrochenen Dauerinfusion von Ferro-Ion gegeben wurden, werden wieder ausgelöscht am Blutdruck, aber nicht an der Kardia. Die Kardia öffnet sich. Das Adrenalin hat seine rapide spasmolytische Wirkung an der tonisch kontrahierten Kardia trotz der Ferro-Infusion ungestört ausgeübt. Seine Blutdruckwirkung hingegen wurde ausgelöscht.

Besprechung der Ergebnisse.

Die beiden Abbildungen sind sehr inhaltvoll und lehrreich. Zunächst sehen wir auf Abb. 1, daß das Ferro-Ion die Adrenalinumkehr nach Vorbehandlung mit Ergotamin unberührt vor sich gehen läßt. Seine dem Adrenalin antagonistische Wirkung blieb aus. Die durch Ergotaminvorbehandlung geschaffenen Stoffwechselverhältnisse erfüllen nicht die Bedingungen seiner antagonistischen Wirkung: das Fe^{++} kann die gefäßerweiternde und blutdrucksenkende Adrenalinwirkung antagonistisch nicht

angreifen. Diese Adrenalinfunktion bleibt vom Ferro-Ion unbeeinflußt. Der Antagonismus zwischen Ferro-Ion und Adrenalin ist somit nicht vollkommen und unbedingt. Das ist übrigens auch auf Abb. 2 am Kardiapräparat zu sehen. Glatt wurden die während der Ferro-Ioninfusionen erfolgten Adrenalininjektionen am Blutdruck ausgelöscht, gleichzeitig kommt aber trotz Dauerinfusion die Adrenalinwirkung an der tonisch kontrahierten Kardia zur vollen Auswirkung — die Kardia erschlafft. Das Adrenalin löst prompt den Spasmus auch in Anwesenheit von Ferro-Ion. Das Ferro-Ion konnte diese Adrenalinfunktion nicht auslöschen, weil offenbar der tätige Zustand des Organs nicht die entsprechende Stoffwechselgrundlage dazu geboten hat. Im selben Moment löscht es die Adrenalinwirkung am Blutdruck aus. Die Stoffwechselbedingungen haben es ermöglicht.

Wenn man jetzt die beiden Vorgänge, diejenigen am Ergotaminpräparat und diejenigen am Kardiapräparat zusammen betrachtet, so ergibt sich daraus, daß die beiden Organzustände — der mit Ergotamin vorbehandelten Muskulatur und der kontrahierten Kardia — identisch sind. Beiden Geschehen liegen offenbar dieselben Stoffwechselvorgänge oder Stoffwechseländerungen zugrunde, welche solche Wirkungen und Reaktionen von Adrenalin und Ferro-Ion bedingen.

Aus diesen Versuchen ist weiterhin ersichtlich, daß der Antagonismus Ferro-Ion : Adrenalin ein funktioneller ist. Mit Recht folgerten W. Straub und K. Stefansson[7] aus ihren Versuchen, daß sich die gesamten Reaktionen zwischen Ferro-Ion und Adrenalin im Erfolgsorgan abspielen und daß ihr Antagonismus kein chemischer, sondern ein funktioneller ist. Denn wenn dieser Antagonismus ein substantieller, ein chemischer wäre, könnte in unserer zweiten Versuchsanordnung das Adrenalin die tonisch kontrahierte Kardia während der Ferro-Ioninfusion nicht zur Erschlaffung bringen. Diese Tatsache ist auch anders zu verwerten. Wenn das Ferro-Ion am Nervenelement angreifen würde, dürfte es zu dieser Adrenalinwirkung nicht kommen. Die kontrahierte Kardia könnte nicht geöffnet werden.

Aber auch eine andere Beobachtung gibt über den Ort, wo sich die Reaktionen Fe^{++} : Adrenalin abspielen, Auskunft. Wir verweisen auf den ersten Teil der Abb. 2. Die Kardia hat sich nicht kontrahiert, als wir das Ferro-Ion infundiert haben vor der Durchtrennung beider Vagi, was aber mit Rücksicht auf die Innervationsverhältnisse zu erwarten wäre. Wenn das Ferro-Ion am Nervenelement angreifen würde, d. h. die Endplatten des Sympathicus blockieren würde, dann müßte wohl an der Kardia der Vagustonus zum Ausdruck kommen und der Mageneingang müßte sich schließen. Dies geschah jedoch nicht und wir können sagen, daß der Angriffspunkt des Ferro-Ions im Erfolgsorgan zu suchen ist.

In unseren früher erwähnten Arbeiten konnten wir nachweisen, daß durch Vorbehandlung des Tieres mit Mutterkornalkaloiden in seiner Muskulatur Stoffwechseländerungen auftreten, welche denjenigen der

tätigen, beanspruchten Muskulatur gleichzusetzen sind. Mit Veratrin erzielen wir ungefähr dasselbe Ergebnis. Nebst dem, daß es zur Nebennierenrindenhypertrophie kommt, verschiebt sich die absolute Blutreaktion auf die saure Seite. Bekanntlich hat zuerst Pechstein (8) dargetan, daß sich die chemische Reaktion des arbeitenden Muskels auf die saure Seite verschiebt, und zwar durch die Entstehung von Milchsäure und von anderen Stoffen saurer Natur. An die Arbeiten Donaldsons und Meesers (9) anknüpfend, konnten einige Autoren die Beziehungen der Nebennieren zu Stoffwechselvorgängen und zur Muskelarbeit feststellen [Beznak und Sarkady (10), Riml (11)]. Es wurden wertvolle Angaben verzeichnet. So konnte Fazekas (12) behaupten, daß die auf verschiedene Weise zustande kommenden Hypertrophien der Nebennierenrinden auf einer gemeinsamen Ursache beruhen, auf der Verschiebung des Chemismus des Organismus auf die saure Seite, also auf der Acidose. Die Acidose entsteht bei der Muskelarbeit, und wie wir in unserer ersten Arbeit gezeigt haben, bei den mit Secale-Alkaloiden vergifteten Tieren, und diese Vergiftung ist nach unserer Meinung identisch mit den Vorgängen im tätigen Muskel. Diese Annahmen Fasekas wurden bestätigt von Beznak, Hajdu und Korenyi (13). Wenn wir eigene Ergebnisse und diese Tatsachen reden lassen, sehen wir, daß die Bedingungen der Adrenalinumkehr im Stoffwechsel zu finden sind. Die Umkehr hängt vom Zustand des Organs ab. Der Zustand eines Organs wird lediglich durch seine Stoffwechsellage gekennzeichnet und bestimmt. Ist diese durch irgendwelche Ursachen oder Geschehnisse, endo- oder exogener Herkunft, sei es physiologischer oder pathologischer Natur, in jener Richtung verschoben, daß die p_H saurer wird, dann sind die Bedingungen und Möglichkeiten der Adrenalinumkehr gegeben. Die Betonung Reins, daß die Art der Reaktionsbereitschaft der Gefäße vom jeweiligen Stoffwechselstand der Gewebe abhängt, kommt noch besser zum Ausdruck in seinen Worten: „Der Kreislauf muß tun, was der Stoffwechsel vorschreibt (14)." Abhängigkeit von Stoffwechsel, die wir in unseren bisherigen Versuchen auch nachgewiesen haben, ist besonders deutlich an Reaktionen kleiner Adrenalindosen ausgeprägt. Wie sich die kleinsten Adrenalindosen benehmen, das hoffen wir aus Experimenten, die bereits im Gange sind, erfahren zu können.

Die älteren Anschauungen über die Ursachen und Bedingungen der Adrenalinumkehr, die z. B. die Tonusänderung der Gefäßmuskulatur dafür verantwortlich machten (Cannon und Lyman (15), Snyder und Andrus (16), Carlson und Pearcy (17) u. a.), konnten schon damals nicht befriedigen, und zwar aus mehreren Gründen. Wenn man nun an Hand objektiver Versuchsergebnisse die Beantwortung dieser Frage mit Stoffwechselvorgängen im Erfolgsorgan in Verbindung zu bringen sucht, so ist manche Unklarheit dabei doch nur eine scheinbare. Gewiß sind noch viele Fragen bezüglich Stoffwechselgeschehen im Gewebe von grundlegender Bedeutung, deren Lösung noch aussteht, aber man ist auf richtigem Wege.

Unter diesem Gesichtswinkel sind viele Angaben und Deutungen zu revidieren. Man kann heute die altbekannte Verschiedenheit der Adrenalinwirkung auf verschiedene Gefäßgebiete auch besser verstehen. Um von Unterschieden der Wirkungen großer, kleiner und kleinster Dosen hier abzusehen, zeigen die stärkste Gefäßverengerung die Gefäße des Darms, der Nieren, der Haut und der Schleimhäute. Andere Gebiete, wie z. B. die Lungen [Hochrein (18)] und das Gehirn, zeigen eine geringere Verengerung. Dies ist offenbar mit Stoffwechselvorgängen verbunden. Ganz besonders gilt dies z. B. für die Beobachtung, daß Adrenalin nach Ergotoxin [Tribe, Macht (19)] die Lungengefäße erweitert, was gewiß nicht darauf zurückzuführen ist, daß der Sympathicus auch erweiternde Fasern mitbringt, sondern auf die durch Ergotoxin herbeigeführten Stoffwechseländerungen im Erfolgsorgan. Eingehend diese Frage zu behandeln ist jedoch nicht die Aufgabe dieser Arbeit. Wir wollten nur hinweisen.

Auch ist die Wirkung von Ferro-Ion vom Stoffwechsel abhängig. Es stellt sich, wie wir gesehen haben, nicht antagonistisch zur gesamten Kreislaufwirkung von Adrenalin, sondern nur zu deren einer Komponente, zur gefäßverengernden und blutdrucksteigernden. Es löscht auch nicht die spasmolytischen Adrenalinwirkungen aus, wenn die Stoffwechselbedingungen dazu fehlen. Wie es sich zu den sogenannten Stoffwechselwirkungen des Adrenalins verhält, ist noch zu sehen. Jedenfalls ist hervorzuheben, daß schon 1881 Meyer und Williams (20) bei akuter Eisenvergiftung nach Injektion von komplexem Ferri-Tartrat Natrium im Tierexperiment starke acidotische Blutveränderungen gefunden haben. Sie betonten, daß die Säuren vom Organismus gebildet werden und vermuteten, daß es sich vielleicht um eine „Hemmungsbildung" handelt, „wobei die in den Geweben entstehenden Säuren, wie z. B. die Milchsäure, die sonst schließlich zu CO_2 oxydiert werden, bestehen bleiben und ins Blut gelangen".

Zusammenfassung.

1. Das Ferro-Ion löscht die blutdrucksenkende Adrenalinwirkung nicht aus.

2. Das Ferro-Ion löscht die Adrenalinwirkung am tätigen Organ nicht aus.

3. Der Antagonismus zwischen Ferro-Ion und Adrenalin ist ein funktioneller, wie dies bereits W. Straub und K. Stefansson betont haben, er ist jedoch kein vollkommener, denn die Adrenalinwirkung am tätigen Organ wird nicht antagonistisch beeinflußt.

4. Das Ferro-Ion blockiert nicht die sympathischen Endplatten. Sein Angriffspunkt liegt im Erfolgsorgan, wie dies schon W. Straub und K. Stefansson festgestellt haben und wir bestätigen konnten.

5. Die Wirkung des Ferro-Ions ist vom Zustand, d. h. vom Stoffwechsel des Organs abhängig. Dieser schafft die Grundbedingungen für seine Wirkung gegenüber Adrenalin.

6. Auch unsere andernorts gefaßte Behauptung, daß der durch Mutterkornalkaloide herbeigeführte Zustand der Muskulatur dem tätigen Zustand entspricht, bzw. mit diesem identisch ist, findet hier ihre Bestätigung.

Literatur.

1) Ivančević u. Stern: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, 655 (1941). — 2) Stern u. Ivančević: Ebenda **198**, 557 (1941). — 3) Riml: Ebenda **188**, 35 (1938). — 4) Straub u. Stefansson: Ebenda **194**, 269 (1940). — 5) Müller; Ebenda **194**, 426 (1940). — 6) v. Brücke u. Stern: Ebenda **189**, 311 (1938). — 7) Straub u. Stefansson: l. c. — 8) Pechstein: Biochem. Z. **58**, 140. Zitiert nach Zbl. Physiol. 1915, S. 551. — 9) Donaldson u. Meeser: Amer. J. Anat. **50**, 359 (1932). Zitiert nach Fazekas: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **198**, 165 (1941) — 10) Beznak u. Sarkady: Pflügers Arch. **234**, 157 (1934). — 11) Riml: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 35; **189**, 650 (1938). — 12) Fazekas: Ebenda **180**, 93 (1935); **198**, 165 (1941). — 13) Beznak, Hajdu u. Korenyi: Magy. orv. Arch. **35**, 97 (1934). Zitiert nach Fazekas: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **198**, 165 (1941). — 14) Rein: Ber. dtsch. chem. Ges. Abt. A, Jahrg. 74, S. 171. — 15) Cannon u. Lyman: Amer. J. Physiol. **31**, 376 (1912). Zitiert nach Hefters Handb. II, S. 2. — 16) Snyder u. Andrus: J. Pharmacol. (Am.) **14**, 1 (1920). Zitiert nach Hefters Handb. II, S. 2. — 17) Carlson u. Pearcy: Amer. J. Physiol. **61**, 14 (1922). Zitiert nach Hefters Handb. II, S. 2. — 18) Hochrein: Verh. dtsch. Ges. Kreisl.forsch. VIII. Tagung 1935, S. 51. — 19) Tribe u. Macht: J. Pharmacol. (Am.) **12**, 157 (1919). — 20) Meyer u. Williams: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **13**, 70 (1881).

Aus dem Physiologischen Institut der Universität München.

Die Kreislaufwirkung des Benzylimidazolins (Priscol).

Von

Erich Bauereisen.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 12. Januar 1942.)

Die bisher vorliegenden Untersuchungen über das Benzylimidazolin haben im Tierexperiment und klinischen Versuch übereinstimmend als charakteristische und reproduzierbare Wirkung eine deutliche Durchblutungssteigerung der Haut und der Schleimhäute ergeben. Diese Eigenschaft hat der Substanz sehr schnell eine ausgedehnte klinische Anwendung bei der Behandlung peripherer Durchblutungsstörungen verschiedener Genese gesichert. Gegenüber zahlreichen Veröffentlichungen, die sich abgesehen von klinischen Beobachtungen im wesentlichen auf Blutdruckmessungen und Bestimmungen der Hauttemperatur beschränken, ist nur eine Arbeit (Siedeck) erschienen, die eine genauere Analyse der Kreislaufwirkung des Priscols gestattet, weil alle physikalisch meßbaren Kreislaufgrößen berücksichtigt wurden. Diese Untersuchung wurde am Menschen ausgeführt, indem der Blutdruck nach Riva-Rocci gemessen und zentraler, sowie peripherer Puls durch Sphygmographie aufgezeichnet wurden. Da eine fortlaufende Registrierung des zentralen Blutdruckes beim Menschen nicht durchführbar ist, sahen wir uns veranlaßt, die genannte Substanz im Hundeversuch zu prüfen. Dies erscheint um so wichtiger, als nach unvorsichtiger Dosierung beim Menschen Nebenwirkungen auftreten können, die zum großen Teil auf den Kreislauf bezogen werden müssen. Abgesehen von der klinischen Bedeutung ist natürlich ein Stoff, der eine lediglich oder wenigstens vorwiegend peripher angreifende Widerstandsverminderung bewirken soll, auch physiologisch besonders für die Bearbeitung hämodynamischer Fragen von großem Interesse. Weiterhin wurde nach größeren Priscolgaben beim Menschen das Auftreten von Gänsehaut und Frösteln beobachtet. Diese Nebenwirkungen sind nicht als toxische Erscheinungen zu werten, sondern stellen das natürliche Ergebnis einer gesteigerten Wärmeabgabe infolge langandauernder Erweiterung der Hautgefäße dar. Es ergibt sich somit für das Priscol eine weitere physiologische Verwendungsmöglichkeit beim Studium von Problemen des Wärmehaushalts. Schließlich übt die Substanz ähnlich dem Histamin eine stimulierende Wirkung auf die Magensaftsekretion aus.

Da die Ergebnisse unserer einzelnen Versuche gute Übereinstimmung zeigten, beschränken wir uns darauf, an Hand eines Versuches die unter Priscoleinwirkung auftretenden Änderungen im Kreislauf darzulegen.

Zur Registrierung der zentralen Druckkurve bedienten wir uns eines Broemserschen Glasplattenmanometers, der Femoralispuls wurde mittels eines Hebelsphymographen mit Lufttransmission aufgezeichnet. Die in Abb. 1 dargestellten Befunde zeigen zunächst zwei Ruhewerte. Unmittelbar nach Aufnahme des zweiten Ruhewertes wurde Priscol langsam in einer Menge von 1,1 ccm/kg Körpergewicht in die Vena jugularis injiziert und die weiteren Registrierungen in den auf der Abszisse angegebenen Zeitabständen vorgenommen. Die verabfolgte Dosis von 10 mg Priscol/kg beträgt etwa $^1/_7$ der letalen und das 10fache der Schwellendosis.

Unmittelbar im Anschluß an die intravenöse Priscolinjektion fallen der systolische und diastolische Blutdruck deutlich ab. Dabei ist die Erniedrigung, die der diastolische Wert erfährt, etwas stärker ausgeprägt,

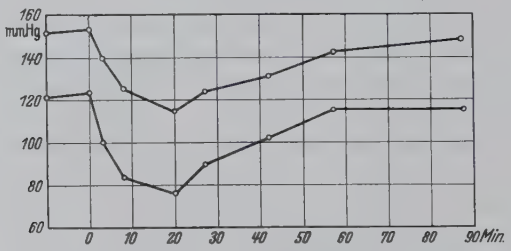


Abb. 1. Systolischer und diastolischer Blutdruck.

als die des systolischen. Daraus resultiert eine Vergrößerung der Amplitude bei verringertem Mitteldruck. Sehr deutlich ist dieses Verhalten auch bei dem ersten Versuch von Siedeck zu erkennen, in dem der Mitteldruck von 97.5 auf 90 mm Hg absinkt, die Amplitude von 25 auf 40 mm Hg ansteigt. Im übrigen hat Siedeck allerdings in der Mehrzahl der Fälle eine systolische Blutdrucksteigerung beobachtet, so daß die Werte für den Mitteldruck sich erhöhen. Der diastolische Anstieg ist in den entsprechenden Fällen geringer, so daß eine Amplitudenvergrößerung auftritt. Das Maximum der Blutdrucksenkung trat in unseren Versuchen 20 Minuten post injectionem auf. Zunächst schneller, dann immer langsamer werdend, streben die Blutdruckwerte wieder ihrem Ausgangsniveau zu, das etwa 90—120 Minuten nach der Injektion erreicht wird (vgl. Abb. 1, Tabelle 1).

Die Pulswellengeschwindigkeit, die in bekannter Weise aus der Verspätung des peripheren gegenüber dem zentralen Puls und aus der dazwischenliegenden Arterienstrecke ermittelt werden kann, zeigt eine Abnahme, die auf eine vermehrte Dehnbarkeit der Arterien schließen läßt. Diese Tatsache kommt auch dadurch zum Ausdruck, daß unter der Priscolwirkung in der Druckkurve Eigenschwingungen auftreten, die in der Ruhe und unmittelbar nach der Injektion fehlen, um sich dann in steigendem Maße auszubilden. Es ist daher, um einwandfrei ausmeßbare Kurven zu

Tabelle 1. Versuch vom 12. Juli 1941. Hund 17,5 kg. Aortenquerschnitt 2.0 cm². Priscol i. v. 1,1 cm³/kg.

Nr.	Fr.	T^* Sek.	S Sek.	D Sek.	Sek.	c cm/Sek.	p_s mm Hg	p_d mm Hg	$p_s - p_d$ dyn/cm²	E' dyn/cm⁵	w^* dyn/cm⁵	V_s cm³
3	229	0,262	0,119	0,143	0,064	656	152	122	40100	2920	3780	12,7
4	226	0,265	0,118	0,147	0,063	665	154	124	40100	2990	4020	12,2
6	274	0,219	0,097	0,122	0,076	553	141	101	53500	3021	2080	15,9
7	297	0,202	0,090	0,112	0,078	540	126	84	55400	3180	1790	15,9
9	279	0,215	0,094	0,121	0,077	545	115	77	51500	3060	1770	15,8
10	289	0,808	0,087	0,121	0,075	560	124	90	45400	3410	2660	12,2
11	264	0,220	0,095	0,125	0,064	655	131	102	38600	3650	3660	9,9
12	277	0,216	0,091	0,125	0,067	625	142	115	36100	3640	4280	9,2
14	277	0,216	0,092	0,124	0,068	618	148	115	44100	3550	2406	11,5

erhalten, notwendig, die Manometerkanüle sehr weit gegen die Aorta vorzuschieben. Gleichzeitig tritt eine Vergrößerung des Elastizitätsmoduls des Gesamtwindkessels (E') ein (vgl. Tabelle 1). Nach der Beziehung $E' = \frac{\varkappa}{V} = \frac{\varkappa}{Q \cdot L_w'}$ ($\varkappa = \varrho \cdot c^2$) muß das Windkesselvolumen V in stärkerem Maße abnehmen, als sich die Pulswellengeschwindigkeit c vermindert. Das ist, da Q als konstant angenommen wird, nur durch eine Abnahme von L_w denkbar. Es ist dabei allerdings zu berücksichtigen, daß, wenn man als wirksame Windkessellänge mit Broemser und Ranke $L_w = S \cdot c$ setzt, auch jede Verkürzung der Systolendauer eine Vergrößerung von E' bedeutet. Im Gegensatz zu den Befunden von Siedeck fanden wir die Erniedrigung der Pulswellengeschwindigkeit in enger zeitlicher Beziehung zu den Veränderungen der übrigen Kreislaufgrößen. Siedeck beobachtete eine Erhöhung der Pulswellengeschwindigkeit und bringt sie mit den nach Priscol auftretenden Blutdrucksteigerungen in Zusammenhang. Damit ergeben sich natürlich auch für die Änderungen von L_w andere Voraussetzungen.

Zur Berechnung des Schlagvolumens benutzten wir die Formel von Broemser und Ranke mit $z = 0{,}5$, da sie nach den Untersuchungen von Wetterer und Deppe im Tierversuch bei verschiedenartigsten Kreislaufzuständen den direkt bestimmten Schlagvolumina am nächsten kommt und somit die verläßlichsten Werte ergibt. Außerdem wird die Grundschwingung mit Erniedrigung des peripheren Widerstandes sehr schlecht oder gar nicht meßbar, so daß gerade während der maximalen Priscolwirkung die Voraussetzungen zur Schlagvolumenbestimmung nach Wezler und Böger fehlen. Das Schlagvolumen erreicht seinen Maximalwert in steilem Anstieg bereits wenige Minuten nach der Priscolinjektion und hält sich für etwa 20 Minuten auf dem erhöhten Wert. Gleichzeitig mit dem Wiederanstieg des Blutdruckes wird das Schlagvolumen geringer, um sich nach vorübergehender Erniedrigung wieder auf seinen Ausgangswert einzustellen.

Von besonderem Interesse ist das Verhalten des peripheren Widerstandes, dessen Absinken unter Priscol nach allen bisher vorliegenden Untersuchungen als hervorragendste Wirkung des Präparats zu erwarten war. Auch in unseren Versuchen verminderte sich der Widerstand nach Priscolgabe deutlich. Dies Verhalten kann man bereits den systolischen und diastolischen Blutdruckwerten entnehmen, denn, während der Mitteldruck nach der Injektion geringer wird, vergrößert sich die Amplitude. Diese Änderung ist bereits 1899 von O. Frank als charakteristisch für eine Verminderung des peripheren Widerstandes angegeben worden. Wird

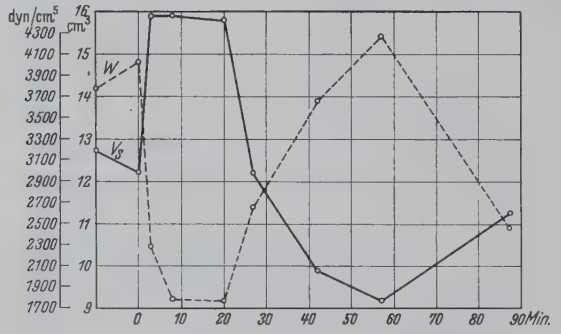


Abb. 2. Schlagvolumen V_s und Widerstand w.

der Widerstand nach der Beziehung $w = \frac{E' \cdot D \cdot P_m}{P_s - P_d}$ errechnet, so lassen sich quantitative Aussagen über sein Verhalten machen. Nach der Definition w = mittlerer Druck : mittlere Stromstärke $= \frac{P_m \cdot T}{V_s}$ setzen wir für den ursprünglich von Broemser und Ranke in die Widerstandsformel gebrachten diastolischen Druck den Mitteldruck P_m. Da Broemser und Ranke den Faktor z auf E' beziehen, wurden die nach der obigen Formel berechneten Widerstandswerte mit 2 multipliziert. Wie aus der Abbildung 2 und der Tabelle hervorgeht, sinkt der Widerstand in zeitlicher Übereinstimmung mit den bereits beschriebenen Änderungen der übrigen Kreislaufgrößen zunächst steil ab und hält sich für etwa 20 Minuten auf dem erniedrigten Wert, um dann wieder auf die Ausgangsgröße zu steigen. In welchem Teil des arteriellen Systems die Widerstandsverminderung eintritt, läßt sich nach unseren Versuchen natürlich nicht entscheiden. Sicherlich beschränkt sie sich nicht nur, wie bereits aus vorausgehenden Untersuchungen bekannt ist, auf eine Öffnung der Kapillaren, sondern auch die Arteriolen werden erweitert. Nach unseren Befunden ist es wahrscheinlich, daß der gesamte arterielle Anteil des Gefäßsystems einschließlich der zentralen Arterien vom Priscol beeinflußt wird. In diesem Zusammen-

hang sei darauf hingewiesen, daß nach Ausschaltung des Vasomotorenzentrums die gefäßerweiternde Wirkung des Priscols erhalten bleibt. Der Angriffspunkt der Substanz ist also in den Gefäßen selbst zu suchen.

Bei einer Vergrößerung des Schlagvolumens, wie wir sie oben beschrieben haben, ist es natürlich interessant zu erfahren, ob sie lediglich durch die veränderten Strömungsverhältnisse im peripheren Kreislauf bedingt ist oder ob etwa der Herzmuskel durch die Wirkung des injizierten Präparates direkt daran beteiligt ist, wobei wir die veränderten Kontraktionsbedingungen etwa durch vermehrte Füllung außer Betracht lassen. Um die Wirkung einer Substanz allein auf die kontraktilen Elemente des Herzens untersuchen zu können, müssen alle nervösen Faktoren, die die Herztätigkeit beeinflussen, ausgeschaltet werden. Diese Bedingungen sind nur am stillstehenden, durch künstliche Reize zum Schlagen gebrachten Herzen erfüllt. Weiterhin muß verlangt werden, daß die isotonischen Volumenschwankungen, auf die wir uns in der vorliegenden Untersuchung beschränkten, einwandfrei wiedergegeben werden. Diese Forderung erfüllt eine einfache Apparatur, die, auf Arbeiten von O. Frank fußend, von Reichel ausgearbeitet und in zahlreichen Untersuchungen verwendet wurde. Das durch 1. Stanius-Ligatur stillgelegte Froschherz, in dessen Ventrikel eine mit einem Steigrohr verbundene Kanüle eingeführt wurde, wird in eine Segmentkapsel gebracht. Ein auf der Kapselmembran befestigter Spiegel registriert die Volumenänderungen des Herzens, das ein bestimmtes Schlagvolumen in das Steigrohr auswirft. Prüft man mit einer derartigen Anordnung die Wirkung des Priscols auf das unermüdete Froschherz, so ergibt sich keinerlei Beeinflussung der isotonischen Entleerungskurve. Auch das ermüdete Herz spricht auf Priscolgaben, die sich in der Größenordnung der beim Warmblüter als kreislaufwirksam bekannten Dosen bewegen, nicht an. Steigert man die Priscoldosis weiter, so beobachtet man zuweilen eine geringgradige Erhöhung der Entleerungskurve, ohne daß sich dabei jedoch die Anstiegsteilheit und die Dauer der Kontraktion verlängern würde, wie das vom Adrenalin oder Strophantin bei gleicher Versuchsanordnung bekannt ist. Die weitere Erhöhung der in den Ventrikel injizierten Priscolmenge führt dann bald zu einer Verringerung der Ausschlagshöhe der Volumenkurve. Vergleicht man die direkt in den Ventrikel gebrachten herzwirksamen Priscoldosen unter Berücksichtigung der Gewichtsverhältnisse mit den an Warmblütern ermittelten letalen Konzentrationen, so dürfte bei der üblichen therapeutischen Dosierung eine direkte Wirkung des Priscols auf den Herzmuskel zu vernachlässigen sein.

Zusammenfassung.

Die physikalische Analyse der Kreislaufwirkung des Priscols hatte beim Hunde folgende Ergebnisse:

Der Blutdruck sinkt nach der Injektion ab, wobei die Senkung des diastolischen Druckes die des systolischen überwiegt, so daß bei vermindertem Mitteldruck eine Amplitudenvergrößerung eintritt.

Die Pulswellengeschwindigkeit nimmt ab, während der Elastizitätsmodul des Gesamtwindkessels ansteigt.

Das Schlagvolumen vergrößert sich.

Der periphere Widerstand nimmt ab.

Die muskuläre Wirkung des Priscols auf den Froschventrikel ist uneinheitlich und tritt erst bei so hohen Dosen auf, daß eine muskuläre Wirkung des Priscols bei therapeutischer Dosierung äußerst unwahrscheinlich ist.

Literatur.

Siedeck: Z. Klin. Med. **139**, 239 (1941). — Wetterer u. Deppe: Z. Biol. **99**, 307 (1939); **100**, 105 (1940). — Frank, O.: Ebenda **37**, 483 (1899). — Reichel, Ebenda **99**, 63 (1938).

Aus dem Institut für Pharmakologie und experimentelle Therapie der Universität Breslau. (Direktor: Prof. Dr. O. Eichler.)

Orientierende Versuche über die Einwirkung des Coffeins auf den Fettstoffwechsel der Leber*.

Von

Helmut Hindemith.

(Eingegangen am 1. Januar 1942.)

Die hier vorgelegte Untersuchung verfolgt logisch frühere Befunde über die Stoffwechselwirkung des Coffeins [1, 2]. Es ergab sich in den erwähnten Versuchen, daß nach großen Dosen von Coffein bei Ratten eine Stoffwechselsteigerung mit Erniedrigung des respiratorischen Quotienten erfolgte. Da solche Erniedrigung als ein Zeichen erhöhter Fettverbrennung oder sogar Umsetzung in Kohlehydrate aufzufassen ist, ergab sich hier die Möglichkeit, in das vielfach noch dunkle Gebiet der Fettumsetzungen einzudringen. Man braucht nur an die Rolle zu denken, die bei der Erforschung des Kohlehydratstoffwechsels fördernde und hemmende Gifte (z. B. Fluorid oder Jodessigsäure) gespielt haben, um den Weg nicht für völlig abwegig zu halten. Nun sind unsere Interessen natürlich in erster Linie pharmakologischer Natur, und auch solche sind hier im Spiele, wie folgende Überlegung lehrt.

Bei der Stoffwechselsteigerung nach Coffein besteht immer die Schwierigkeit, daß der Effekt indirekt, also über eine motorische Erregung zustande kommt. Schon früher [1] wurde diese Möglichkeit betrachtet, aber für die betreffende hohe Dosis als unwahrscheinlich zurückgewiesen. Hier möge als ein neues Argument gegen Bewegungen die Senkung des RQ. angeführt werden, der bei Muskelarbeit als Zeichen erhöhten Kohlehydratzerfalls zu steigen pflegt. Nur bei längerdauernden Anstrengungen wird mehr und mehr Fett herangezogen, aber ohne daß der Wert 0,7 unterschritten wird [3, 4]. Da Coffein die körperliche Leistungsfähigkeit steigert [5, 6], besteht die Möglichkeit, beide Punkte zu vereinen und im Endziel den Weg anzugeben, aus welchen Quellen die durch Coffein verursachte Leistungssteigerung gewonnen wird, die in einer erhöhten Bereitstellung sonst nur träger nutzbarer Energie, nämlich aus Fett bestehen könnte. Daß Fett auch bei Muskelleistungen als Energiequelle dienen kann, wird

* Diese Arbeit wurde ermöglicht durch finanzielle Unterstützung des Roche-Fonds der deutschen Forschungsgemeinschaft.

[1] Hindemith, H. Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 587 (1939). – [2] Hindemith, H., u. R. Angstenberger: Ebenda **193**, 599 (1939). – [3] Stewart, C. P.: Biochem. J. **25**, 733 (1931). – [4] Patterson, Ebenda **21**, 958 (1927). – [5] Eichler, O. Kaffee und Coffein. Springer, Berlin, 1938. – [6] Stephan: Diss. Breslau 1941 u. H. W. Klein: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 204 (1938).

wohl allgemein angenommen, wesentliche Differenzen bestehen aber über den vom Organismus eingeschlagenen Weg. Macleod[7] hält extrem daran fest, daß erst eine Umwandlung in Kohlehydrat erfolgen müsse, bevor eine Nutzung erfolgt. Gegen diese vereinfachte Auffassung spricht eine energetische Betrachtung. Wenn 1 g Palmitinsäure, $C_{18}H_{36}O_2$ (wir vernachlässigen den Glycerinanteil des Fettes), in Kohlehydrat übergeht, dann nimmt sie Sauerstoff auf und erhält ein Gewicht von 1,9 g. Unter Zugrundelegen der Rubnerschen Zahlen[8] entsteht also aus 1 g Palmitinsäure mit einem Brennwert von 9,3 Cal 1,9 g Glucose mit 7,8 Cal, mit einem Verlust von 16%, also ein außerordentlich unökonomischer Vorgang für die einfache Vorbereitung einer Energietransformation. Es ist aber nichts darüber bekannt, daß die Ökonomie bei längerer Arbeit sinkt, es sei denn, daß eine Ermüdung eintritt, was aber auf ganz anderen Ursachen beruht. Wenn also durch Coffein, wie wir sehen werden, die Dehydrierungen begünstigt werden, dann ergibt sich daraus die Möglichkeit, daß an dieser Reaktion, die exotherm verläuft, Energie gewonnen wird. Dabei verwenden wir, wie man sieht, den Meyerhofschen Begriff der energetischen Koppelung, trotzdem nach Hahn der Begriff von dem strengen Standpunkt der Thermodynamik abgelehnt werden müßte.

Bei diesem Vorhaben wagten wir uns nicht gleich an den Muskel, sondern wählten als Objekt die Rattenleber, da hier viele Umsetzungen im Fettstoffwechsel besonders merkbar werden. Nur in der Leber findet man nach Artom die Zunahme von Phosphatiden nach Fettnahrung usw. Wir zeigen in dem Bereich der Untersuchungen vorerst die Veränderungen des Fettgehaltes, der Phosphatide und der Jodzahlen der Phosphatid- und Neutralfettsäuren.

Physiologische Methodik.

Die Untersuchungen wurden an insgesamt 85 weißen Ratten in den Wintermonaten ausgeführt, da nur im Winter die Senkung des RQ. auftrat[1]. Die Tiere wurden lange Zeit vorher bei einer Diät gehalten, die aus Kartoffeln, Kleie, Hafer, Brot und Mohrrüben bestand. Ihr Gewicht schwankte zwischen 90 und 275 g mit gleichmäßiger Verteilung in den einzelnen Gewichtsklassen. Bei den Versuchen mit chronischer Vorbehandlung wurden entsprechend kleinere Ausgangsgewichte gewählt. Verabfolgt wurden 100 mg/kg Coffein. purum. subcutan oder peroral in 1%iger Lösung, eine Dosis, die sich bei unseren früheren Versuchen[1] als deutlich stoffwechselsteigernd erwiesen hatte und die andererseits von den Tieren in chronischen Versuchen lange Zeit ohne Schaden vertragen wird. Die seit 15 Stunden nüchternen Tiere wurden bei den Versuchen mit einmaliger Gabe 3 Stunden nach Verabfolgung des Coffeins durch Nackenschlag und Entbluten getötet. In dieser Zeit war früher die Stoffwechselsteigerung am stärksten vorhanden. Bei den chronischen Versuchen erfolgte die letzte Verabfolgung des Coffeins am Tage vorher, die Tötung erfolgte 18 Stunden nach Wegnahme des Futters. Nach Präparation der Leber wurde diese kurz abgespült, mit Filterpapier getrocknet und das Frischgewicht festgestellt.

[7] Macleod, J. J.: Asher-Spiro **30**, 408 (1930). — [8] Siehe Schmitz, E.: Lehrbuch der chemischen Physiologie. Berlin 1937, S. 353.

Chemische Methodik.

Die Lebern wurden in ein feuchtes Mulläppchen eingehüllt und nach den Angaben von M. Behrens [9] nach Shakell im Vakuumexsikkator bei 0,1 mm Hg getrocknet. Nach dieser Prozedur lassen sie sich leicht im Mörser pulverisieren und weiter verarbeiten. Eine abgewogene Menge des staubfeinen Pulvers wurde im Soxhlet mit heißem Alkohol extrahiert. Nach Kumagawa und Suto [10] gelingt mit Alkohol eine sicher erschöpfende Extraktion. Der Extrakt bildet den Ausgangspunkt unserer weiteren Analysen. Er enthält nun nach obigen Autoren deutliche Mengen nichtfettiger Substanzen, und zwar selbst nach Reinigung durch Äther. Diese Tatsache spielte keine Rolle für uns, da der „Ätherextrakt" erst verseift wurde, und dann erst die Fettsäuren zur Bestimmung gelangten. Da das im Vakuum getrocknete Pulver nach Behrens [11] zugesetzte Alkaloide (z. B. Strychnin) zur Extraktion nicht gut frei gibt, haben wir uns in Vorversuchen über Dauer und Vollständigkeit der Extraktion eingehend orientiert. Nachstehendes Beispiel zeigt, daß bei fraktionierter Extraktion nach 3 Stunden bereits 97%, nach weiteren 4 Stunden über 99% des Gesamtextraktes erhalten werden.

Zeit in Stunden	Ätherextrakt in g	% des Gesamtextrakts
0— 1	0,168	43,5
2— 5	0,207	53,3
6— 9	0,007	2,3
10—13	0,002	0,5
	0,384	100,0

Die Verseifung des bereits erschöpfend extrahierten Organpulvers nach Kumagawa und Suto ergab weniger als 1 mg Fettsäuren, d. h. weniger als 0,4% der nach Verseifung des Ätherextraktes erhaltenen Gesamtfettsäuren. Auf Grund dieser Vorversuche wählten wir eine Extraktionszeit von 10—12 Stunden.

Zur Reinigung wurde der Alkoholextrakt in Äther gelöst und durch ein Watte-Asbestfilter filtriert. Der Äther wird bei Zimmertemperatur abgeblasen, im Vakuum nachgetrocknet, und die Gesamtmenge gewogen. Die hierbei gewonnenen Zahlen wurden nur zur Kontrolle der weiteren Analysen, nicht aber hier bei der Publikation verwandt. Dieser sog. Ätherextrakt wurde in 100 ccm Äther aufgenommen und in 2 Teilen weiterverarbeitet.

Teil 1, wiederum unterteilt zu je 25 ccm als Doppelbestimmungen der Gesamtfettsäuren;

Teil 2, ebenso zur Bestimmung der Lipoide.

Bei der Operation wurde nur Äther des DAB. gebraucht, der sicher frei von Peroxyden war. Peroxyde vermögen die Doppelbindungen ungesättigter Fettsäuren abzusättigen, so daß die Jodzahl zu klein wird. Zwar arbeiteten wir nicht in O_2-freier Atmosphäre, jedoch wurde Wärme vermieden und die wesentliche letzte Trocknung erfolgte im Hochvakuum, so daß besonders eine Oxydation der hochungesättigten Säuren möglichst klein gehalten wurde. Daß dieser Fehler nicht wesentlich ins Gewicht fiel, glauben wir aus zwei Punkten zu ersehen. Die erhaltenen Werte stimmen mit denen der Literatur gut überein (Sinclair usw.) und dann ergaben die Doppelbestimmungen immer fast identische Zahlen.

[9] Behrens, M.: Hoppe-Seylers Z. **209**, 59 (1938). — [10] Kumagawa u. Suto: Biochem. Z. **8**, 212 (1908). — [11] Behrens, B.: Private Mitteilung.

Die weitere Verarbeitung erfolgte folgendermaßen:

1. Zur Bestimmung der Gesamtfettsäuren wurden 25 ccm Ätherlösung in einen 250 ccm Schliffkolben gegeben, der Äther vertrieben und 2 ccm 20%ige NaOH + 25 ccm Alkohol zugesetzt. Am Rückflußkühler wurde $^1/_2$ Stunde verseift, der Alkohol entfernt, die zurückbleibenden Seifen in 25 ccm heißem Wasser klar gelöst, mit H_2SO_4 gefällt und im Flüssigkeitsextraktor extrahiert. Der Ätherextrakt wurde so lange mit Wasser gewaschen, bis Zusatz von $BaCl_2$ keine Reaktion mehr gibt. Dann erfolgte nach Abdampfen des Äthers die notwendige Reinigung durch Aufnahme des Rückstandes in Petroläther. Die Lösung wird filtriert, eingedampft in der Kälte (unterhalb des Gefrierpunktes) und im Vakuum bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Das ist das Gewicht der Gesamtfettsäuren. Nach Wägung wurden die Fettsäuren in Chloroform gelöst und in einen 25 ccm Erlenmeyer-Kolben überführt. Jetzt erfolgte die Jodzahlbestimmung nach Wijs [12].

2. Zur Bestimmung der Lipoide wurden die 25 ccm Äther im Zentrifugengläschen in der Kälte auf 1 ccm eingeengt. Dazu wurden jetzt 25 ccm Aceton und $MgCl_2$ (5–6 Tropfen einer gesättigten alkoholischen Lösung) zur Fällung der Lipoide zugesetzt, zentrifugiert, das Aceton entfernt, der Niederschlag nochmals in Äther gelöst und nochmals wie oben gefällt und zentrifugiert. Der Bodensatz wird in feuchtem Äther aufgenommen, in den Verseifungskolben überführt und weiter wie Teil 1 verarbeitet. Erhalten werden die Fettsäuren der Lipoide und deren Jodzahl. Bei der Zahl von 85 Versuchstieren wurden insgesamt mehr als 765 Analysen ausgeführt.

Einmalige Verabfolgung von Coffein.

Coffein wurde in diesen Versuchen peroral und subcutan gegeben, weil bei den ersten Versuchen [1] sich Unterschiede nach der Applikationsart gezeigt hatten, und zwar zeigte sich die subcutane Gabe als wirksamer. Anstatt zu versuchen, den Verlauf nach Coffeingabe zu erfassen, zogen wir es vor, nur nach einer definierten Zeit den Versuch immer zu wiederholen, da sich dadurch eher eine statistische Behandlung ermöglichen ließ. Die gemessenen und berechneten Werte und die Differenzen gegen die Normalwerte mit ihren Streuungen sind in Tabelle 1 niedergelegt. Waren die Differenzen zu klein, um überhaupt Beachtung zu verdienen, d. h. kleiner als die einfache Streuung, dann wurde einfach die Zahl 0 eingesetzt. Es ist nun üblich, daß die Differenz das Dreifache der Streuung übertreffen muß, damit der Ausschlag significant wird. Wir haben hier in den verstärkten Kästchen die Werte schon dann, wenn die Differenz das Zweifache der Streuung übertraf, herausgehoben, halten den Ausschlag aber nur dann für brauchbar, wenn die Nachbarseite eine Stütze für diesen Ausschlag geben oder eine übermäßige Größe der Streuung (umzurechnen in Streuung des Kollektivs und dann erst zu vergleichen!) darauf hinweist, daß auf diese Weise das Resultat getrübt wird. Eine echte statistische Behandlung verlangte noch die Untersuchung der Streuungen der Streuung. Wir hatten einen Gradmesser durch die große Zahl der Normalversuche.

[12] Handbuch der Lebensmittelchemie Bd. IV. Berlin, Springer, 1939, A. Böhmer u. J. Grossfeld.

Tabelle 1. Einmalige Gabe.

	Normal	Subcutan	Peroral
Leberfrischgewicht in % des Körpergewichts	3,32 ± 0,12	3,21 ± 0,58	3,31 ± 0,52
Zahl der Tiere	24	12	8
Differenzen		0	0
Lebertrockengewicht in % des Körpergewichts	0,92 ± 0,03	0,98 ± 0,05	0,92 ± 0,02
Zahl der Tiere	24	12	8
Differenzen		0	0
Lebertrockengewicht in % des Leberfrischgewichts	28,5 ± 0,4	29,6 ± 0,3	30,5 ± 1,5
Zahl der Tiere	24	12	8
Differenzen		+ 1,1 ± 0,5	+ 2,0 ± 1,6
Gesamtfettsäuren in % des Leberfrischgewichts	4,44 ± 0,15	5,02 ± 0,28	3,92 ± 0,18
Zahl der Tiere	37	12	8
Differenzen		+ 0,58 ± 0,31	- 0,52 ± 0,23
Gesamtfettsäuren in % des Leberfrischgewichts	14,5 ± 0,18	16,7 ± 1,0	13,9 ± 0,18
Zahl der Tiere	24	12	8
Differenzen		+ 2,2 ± 1,0	− 0,6 ± 0,25
Lipoide in % des Leberfrischgewichts	0,03 ± 2,45	2,67 ± 0,12	2,7 ± 0,17
Zahl der Tiere	24	8	7
Differenzen		+ 0,22 ± 0,13	+ 0,25 ± 0,17
Lipoide in % des Lebertrockengewichts	8,7 ± 0,28	9,3 ± 0,28	9,7 ± 0,63
Zahl der Tiere	24	12	7
Differenzen		+ 0,6 ± 0,39	+ 1,0 ± 0,7
Lipoide in % der Gesamtfettsäuren	52,9 ± 2,27	55,6 ± 3,0	65,9 ± 4,76
Zahl der Tiere	32	12	8
Differenzen		0	+ 13,0 ± 5,3
Jodzahlen der Gesamtfettsäuren	133 ± 2,48	134 ± 4,0	148 ± 3,0
Zahl der Tiere	32	12	8
Differenzen		0	+ 15,0 ± 3,9
Jodzahlen der Lipoide	153 ± 3,0	150,5 ± 3,6	161 ± 3,7
Zahl der Tiere	16	12	8
Differenzen		0	+ 8,0 ± 4,8

Während, wie zu erwarten, die Gewichte der Lebern feucht oder trocken gewogen im Verhältnis zum Körpergewicht keine Abweichungen von der Norm zeigen, sieht man plötzlich bei dem Lebertrockengewicht eine Abweichung nach subcutaner Gabe von Coffein. Hier ist offenbar die Streuung sehr klein, wodurch der Wert vorgetäuscht wird. Eher wird man auf eine Veränderung schließen dürfen, wenn die perorale Gabe betrachtet wird. Da ist die absolute Abweichung größer, aber die zugehörige Streuung der Differenz durch den ungebührlich hohen Wert der Streuung des Wertes entstellt. Es ist möglich, daß hier mit noch größerem Tier-

material schließlich auch signifikante Ausschläge erfolgen könnten. Wenn wir aber fragen, wodurch solche Trockengewichtszunahme erfolgen kann, dann wird man in erster Linie Stoffwechseländerungen verantwortlich machen müssen; und dabei bedeutet immer Fettinfiltration eine Zunahme des Trockengesamtgewichts. Ein Ausschlag in dieser Richtung ist aber nur bei den Lebern bei subcutaner Gabe vorhanden, bei peroraler Gabe dagegen in entgegengesetzter Richtung. Wir sehen, wie notwendig es ist, den einen Wert durch den anderen, und zwar teilweise sich erstreckend auf die Veränderungen bei chronischer Gabe, bestätigen zu lassen. Wenn wir den Rest der Tabelle berücksichtigen, ist nur bei der peroralen Gabe ein Ausschlag in der erwarteten Größenordnung zu sehen, besonders bei dem Anteil der Lipoidfettsäuren an den Gesamtfettsäuren, der noch schwerer wiegen würde, wenn man die übermäßige Streuung der Werte selbst betrachtet. Nimmt man eine Streuung an wie in der Norm, dann wäre der Ausschlag signifikant. Dieser Effekt, der auf einen erhöhten Transport und Umsatz der Fette hindeuten könnte, wird nicht durch die Versuche bei chronischer Gabe bestätigt. Damit entfiele die Wertung, wenn nicht in einer Hinsicht eine Differenz in der Analyse der Versuche zu beachten wäre. Die chronisch behandelten Tiere wurden 18 Stunden, unsere jetzt betrachteten Tiere aber nur 3 Stunden nach der letzten Coffeingabe getötet. Einwirkungen auf den Fettstoffwechsel, die sich in der Menge der Lipoide ausdrücken, sind aber nie von langer Dauer. Selbst in den Versuchen von Artom mit starker Fettfütterung dauert der Ausschlag nur höchstens 6—8 Stunden. Wir werden deshalb diese Frage offenlassen. Sie wäre anzugehen mit radioaktivem Phosphat. Daß die subcutane Gabe vielfach geringere Wirkungen auslöst, trotz der früher beobachteten bedeutenden Stoffwechselwirkung, ist verständlich durch die nach dem Resorptionsweg wechselnde Überschwemmung der Leber mit Coffein. Diese Differenz finden wir auch bei den Jodzahlen, wo die Gesamtfettsäuren eine um etwa das Dreifache der Streuung größere Differenz aufweisen, und zwar auch in Einklang mit den chronischen Versuchen, weshalb wir nicht anstehen, diesen Ausschlag für erwiesen anzusehen, trotz fehlender Abweichung bei subcutaner Gabe. Merkwürdig ist es, daß gerade die Neutralfette und nicht die Lipoide stärker dehydriert werden, wenn bei diesen immerhin auch ein schwacher Ausschlag deutlich ist, der sich aber bei chronischer Gabe nicht wiederholt. Jedoch wäre hier vielleicht die Frage des Transportes wie oben in Betracht zu ziehen.

Chronische Versuche.

Hier wurde dieselbe Coffeinmenge, also 0,1 g/kg subcutan oder peroral täglich über längere Zeit gegeben, und zwar wurden die Tiere nach 1, 2 oder 3 Monaten solcher Behandlung getötet. Die Resultate geben wir auf Tabelle 2 wieder.

Tabelle 2. Chronische Gabe.

	Normal	Subcutan 1. Monat	Subcutan 2. Monat	Subcutan 3. Monat	Peroral 1. Monat	Peroral 2. Monat	Peroral 3. Monat
Leberfrischgew. in % des Körpergewichts	3,32 ± 0,12	3,77 ± 0,16	4,05 ± 0,64	3,31 ± 0,05	3,88 ± 0,15	3,82 ± 0,30	2,99 ± 0,14
Zahl der Tiere	24	8	5	6	8	6	8
Differenzen		+ 0,45 ± 0,2	0	0	+ 0,56 ± 0,2	+ 0,5 ± 0,32	− 0,33 ± 0,19
Lebertrockengew. in % des Körpergewichts	0,92 ± 0,03	0,98 ± 0,13	1,16 ± 0,12	0,97 ± 0,05	1,11 ± 0,04	1,09 ± 0,07	0,92 ± 0,07
Zahl der Tiere	24	8	5	6	9	6	8
Differenzen		0	+ 0,24 ± 0,12	0	+ 0,19 ± 0,05	+ 0,17 ± 0,07	0
Lebertrockengew. in % des Leberfrischgewichts	28,5 ± 0,4	26,3 ± 0,9	30,4 ± 3,5	29,8 ± 0,18	29,5 ± 0,9	28,7 ± 0,5	30,4 ± 0,12
Zahl der Tiere	24	8	5	6	9	6	8
Differenzen		− 2,2 ± 1,0	0	+ 1,3 ± 0,7	0	0	+ 1,9 ± 0,4
Gesamtfettsäuren in % des Leberfrischgewichts	4,4 ± 0,15	3,88 ± 0,44	4,42 ± 0,28	4,3 ± 0,31	5,03 ± 0,64	4,09 ± 0,26	4,49 ± 0,16
Zahl der Tiere	37	8	5	6	9	6	8
Differenzen		− 0,56 ± 0,46	0	0	0	− 0,35 ± 0,30	0
Gesamtfettsäuren in % des Lebertrockengew.	14,5 ± 0,18	16,1 ± 2,03	15,0 ± 1,37	14,1 ± 0,6	—	14,0 ± 0,28	14,5 ± 0,42
Zahl der Tiere	24	8	5	6		6	8
Differenzen		0	0	0		0	0
Lipoide in % des Leberfrischgewichts	2,45 ± 0,03	1,78 ± 0,09	2,28 ± 0,34	2,07 ± 0,05		2,26 ± 0,23	2,09 ± 0,15
Zahl der Tiere	24	8	5	4		6	8
Differenzen		− 0,67 ± 0,1	0	− 0,38 ± 0,06		− 0,19 ± 0,14	0,36 ± 0,15

Tabelle 2 (Fortsetzung).

	Subcutan				Peroral			
	Normal	1. Monat	2. Monat	3. Monat	1. Monat	2. Monat	3. Monat	
Lipoide in % des Lebertrockengewichts ..	8,7 ± 0,28	7,2 ± 0,86	7,1 ± 0,77	6,9 ± 0,17	—	8,3 ± 0,74	6,8 ± 0,19	
Zahl der Tiere	24	8	5	4		66	8	
Differenzen		− 1,5 ± 0,9	− 1,6 ± 0,8	− 1,8 ± 0,32		0	− 1,9 ± 0,34	
Lipoide in % der Gesamtfettsäuren	52,9 ± 2,27	46,2 ± 3,3	50,3 ± 7,19	44,2 ± 8,64	—	58,6 ± 2,74	46,9 ± 1,52	
Zahl der Tiere	32	8	5	4		6	8	
Differenzen		− 6,7 ± 4,1	0	0		+ 5,7 ± 3,5	− 6,0 ± 2,74	
Jodzahlen der Gesamtfettsäuren	133 ± 2,48	127 ± 2,6	145 ± 5,76	146 ± 2,85	—	142 ± 2,15	140 ± 1,68	
Zahl der Tiere	32	8	5	6		6	8	
Differenzen		− 6,0 ± 3,5	+ 12,0 ± 6,32	+ 13,0 ± 3,8		+ 9,0 ± 3,2	+ 7,0 ± 3,0	
Jodzahlen der Lipoide	153 ± 3,0	146 ± 4,5	153 ± 7,8	159 ± 2,1	—	157 ± 0,9	151 ± 5,95	
Zahl der Tiere	16	8	5	4		6	8	
Differenzen		− 9,0 ± 5,4	0	+ 6,0 ± 3,6		+ 4,0 ± 3,2	0	

Das Verhalten der Lebergewichte zeigt die Tendenz zu einer Vergrößerung, die merkwürdigerweise mit der zunehmenden Dauer der Coffeindarreichung geringer wird. Solche Gewichtszunahmen wurden von Stieve[13] bei Kaninchen und von Eichler und Noack[14] bei Ratten nach peroraler Darreichung von 0,1 g pro kg, nicht aber nach subcutaner in signifikanter Differenz beobachtet. In unseren Versuchen ist diese Vergrößerung (siehe Abschätzung der Streuung) bei Berechnung auf Trockengewicht nur bei peroraler Gabe noch deutlich, kann also nach subcutaner Zufuhr auf Flüssigkeitsdurchtränkung (s. 14) zurückgeführt werden. Beim Trockengewicht bezogen auf das Leberfrischgewicht ist nach 3 Monaten peroraler Zufuhr noch eine signifikante Zunahme vorhanden, selbst dann, wenn man die hier unternormale Streuung durch Vergleich mit den Normalwerten korrigiert.

[13] Stieve: Z. exper. Med. **96**, 685 (1935). — [14] Eichler, O., u. C. Noack in Eichler: Kaffee und Koffein. Berlin, Springer, 1938, S. 131 ff.

Diese Gewichtsvermehrung bedeutet aber nicht eine Leberschädigung mit Fettinfiltration einhergehend, denn die Gesamtfettsäuren der Lebern sind weder auf Frischgewicht noch auf Trockengewicht bezogen irgendwie vermehrt. Daß eine Leberschädigung nicht in Frage kommt, ist auch aus dem Verhalten der Jodzahlen abzulesen.

Aus den Jodzahlen sehen wir eine Vermehrung der ungesättigten Säuren bei den Gesamtfettsäuren, und zwar im Anschluß an die Verhältnisse bei einmaliger Applikation auf Tabelle 1, bei peroraler Gabe sofort, während sich der Effekt bei subcutaner Zufuhr erst im Laufe des Versuchs zunehmend einstellt. Es ist von Interesse, daß diese Veränderungen bei den Lipoiden nicht zu finden sind, obwohl doch gerade die Lipoide die Reaktionsform der Fette darstellen sollen und in der Dehydrierung vielleicht der erste Schritt zu einer Fettsäureumsetzung stattfindet. Wir glauben nicht, daß durch das Aufbereitungsverfahren die gegen Luftsauerstoff empfindlichen hochungesättigten Säuren (z. B. Linolensäure) zersetzt wurden, wie wir schon in dem methodischen Teil darlegten.

In dieser Hinsicht gibt uns auch das Verhalten der Lipoide einige Rätsel auf. Diese nehmen nämlich gerade nach subcutaner und peroraler Coffeinzufuhr deutlich ab, wo die Jodzahlen der Gesamtfettsäuren eine Vermehrung erfuhren, d. h. in der dritten Periode. Das ist um so erstaunlicher, als die an Lipoide gebundenen Fettsäuren auch in der Norm die höchsten Jodzahlen aufweisen. Allerdings ist diese Abnahme auch in den ersten Perioden der subcutanen Zufuhr vorhanden bei nicht signifikant veränderter Jodzahl, aber die allgemeine Tendenz zu dieser Änderung ist doch vorhanden, teilweise auch dann, wenn man den Anteil nicht im Lebergewebe, sondern auch die Gesamtfettsäuren in Betracht zieht. Die Befunde würden die Dehydrierung an den neutralen Fetten direkt angreifen lassen. Dieser Vorgang ist ungewöhnlich, z. B. nimmt Quagliariello[15] an, daß nur bei freier COOH-Gruppe das dehydrierende Ferment angreifen könne. Allerdings scheinen ganz verschiedene nicht identische Fermentsysteme in der Leber angenommen zu werden, so außerdem von Lang sowie Annau[16]. Daß gerade an den Neutralfetten die Erhöhung der Jodzahl merkbar wird, spricht gegen die Interpretation der Coffeinwirkung, daß die Leber nur bevorzugt ungesättigte Fettsäuren infolge Transportes aus den Fettdepots aufnehme, denn dieser Transport würde in Form der Phosphatide erfolgen. Diese müßten aber vermehrt sein und in erster Linie eine Erhöhung der Jodzahl anzeigen.

Nach den Untersuchungen von Annau[16] sollen die Phosphatide zuerst der Dehydrierung und der weiteren Oxydation zugänglich sein, jedenfalls in Versuchen in Warburgschen Gefäßen an Gewebsschnitten oder in Gewebsbrei. Dieser Befund ist leicht verständlich bei der guten Löslichkeit der Lipoide. Aber unsere Versuche am intakten Tier scheinen

[15] Quagliariello, G.: Congr. int. Quim. pur. apl. **9**, V, 108 (1934). — [16] Annau, E.: Enzymologia **9**, 150 (1940).

auch noch andere Möglichkeiten zu eröffnen. Vielleicht könnte die Verminderung der Lipoide hier auf einen größeren Umsatz dieser Lipoide hinweisen.

Innere Beziehungen der gefundenen Werte.

Daß, wie früher schon erwiesen[1], Coffein auf den Fettstoffwechsel einwirkt, geht aus den eben mitgeteilten Befunden hervor. Jetzt kommen wir noch zu dem Versuch, Beziehungen zwischen den einzelnen gemessenen Fettkennzahlen aufzusuchen. Diese Beziehungen drücken wir in Form des Korrelationskoeffizienten r aus. Damit genügendes Material vorliegt, fassen wir unsere ganzen Analysen in drei Gruppen zusammen: 1. Die Normalwerte, 2. die einmalige und 3. die wiederholte Coffeingabe, ohne den Zufuhrweg auseinanderzuhalten. Die Werte des Koeffizienten r mit Streuung geben wir in Tabelle 3 wieder.

Tabelle 3.

Wertepaar	Normaltiere		Coffeingaben			
			einmalig		wiederholt	
	Zahl der Tiere	r	Zahl der Tiere	r	Zahl der Tiere	r
Lipoide % Trockengew. — Jodzahl	47	$+0{,}04 \pm 0{,}14$	19	$+0{,}12 \pm 0{,}22$	31	$+0{,}56 \pm 0{,}13$
Geamtfett % Trockengew. — Jodzahl	47	$-0{,}13 \pm 0{,}14$	20	$-0{,}27 \pm 0{,}2$	33	$-0{,}4 \pm 0{,}15$
Jodzahl Gesamtfette — Jodzahl Lipoide	40	$+0{,}52 \pm 0{,}11$	20	$+0{,}41 \pm 0{,}19$	30	$+0{,}47 \pm 0{,}14$

Der erste Punkt ist die bei allen drei Gruppen zutage tretende Beziehung zwischen der Jodzahl der Gesamtfette zu der der Lipoide, die signifikant positiv ist, d. h. also ganz gleich bei welchem Eingriff und bei welcher Jodzahl steigt die Jodzahl der Lipoide mit denen der Gesamtfettsäuren. Diese Angabe ist analog den Befunden von Sinclair[17], nach dem das Verhältnis zwischen gesättigter und ungesättigter Säure der Phosphorlipoide trotz größter Variation in der Diät konstant ist. In die damit gegebene Beziehung ist noch einzufügen, daß die Neutralfettsäuren stärker dehydriert werden als die der Lipoide oder — beides vereint — die Dehydrierung findet da stärker statt, wo die Lipoide auch stärker ungesättigt sind.

Wenn wir den Gehalt an Lipoiden und Gesamtfett zur Jodzahl berücksichtigen, dann finden wir keine Beziehung, d. h. völlige Regellosigkeit trotz dem doch schönen Material von 47 Wertepaaren bei den Normaltieren und nach einmaliger Gabe. Erst bei chronischer Gabe finden sich signifikante Unterschiede, indem bei steigendem Lipoidgehalt auch die Jodzahl

[17] Sinclair, R. G.: J. biol. Chem. (Am.) **111**, 261 (1935).

der Lipoide ansteigt und umgekehrt bei steigendem Gesamtfett die Jodzahl der Fettsäure sinkt. Hier ist also plötzlich, wenn nicht ein Gesetz, so doch eine Regel aufgetaucht, die bei den unbehandelten Kontrollen nicht in Erscheinung tritt, vielleicht weil der Umsatz der Fette geringer ist. Auch die einmalige Coffeininjektion hat daran noch nichts signifikant geändert, wenn auch die Vorzeichen schon in der Richtung zu den chronischen Werten liegen.

Dieser Befund bildet eine Brücke zu den Auffassungen amerikanischer Autoren, nach denen geschädigte Lebern z. B. durch $CHCl_3$ oder CCl_4 oder P [18] nicht nur mehr Fett enthalten, sondern dieses Fett sich durch geringere Jodzahlen auszeichnet. Da die Lebern der Normaltiere solche Zusammenhänge nicht zeigen (oder nicht signifikant), bedeutet das, daß diejenigen Lebern, die schwächer Fett abbauen, also dehydrieren, auch diejenigen sind, die den höchsten Fettgehalt haben. Damit ist nichts mehr und nichts weniger ausgedrückt, als daß hier durch Coffein der Fettstoffwechsel der Leber induziert wird, und zwar über die Dehydrierung der Neutralfette. Daß die Jodzahl der Lipoide mit ihrem Gehalt steigt, ist einer bekannten Vorstellung nicht einzuordnen.

Diskussion.

Der Befund, daß nach Coffein die Dehydrierung der Fette, und zwar vorwiegend der Neutralfette, begünstigt wird, bedeutet, daß die Leber durch diese Coffeindosis in ihrer Funktion zum mindestens nicht geschädigt wird, sondern eher sogar eine Stoffwechseländerung in der entgegengesetzten Richtung aufweist. Das ist wiederum eine Wirkung, und zwar auf den Stoffwechsel, die der von Alkohol entgegenläuft. Die allgemeine Frage, die sich hier anschließt, ist, ob durch Kaffeegenuß in den Tropen die Möglichkeit der Lebererkrankungen gerade nach Alkoholgenuß vermindert wird. Wichtig ist noch eine andere Analogie. Es wurde von Reed u. a.[19] gefunden, daß nach Thyroxin die Jodzahl der Fette in den Fettdepots (die sich aber auch in den Lebern widerspiegeln) erhöht wurde. Unter zahlreichen Versuchsbedingungen gelang das nur auf diese Weise. Diese Wirkung entspricht der von Coffein, und es ist auffällig, daß die Hyperthyreotiker eine ungewöhnliche Empfindlichkeit gegenüber Coffein besitzen. Dieses ist nicht mehr als ein Aperçu und bedarf zur Klärung noch einer ganzen Reihe von Zwischengliedern, aber wir haben hier den Hinweis auf den Zusammenhang zwischen einem Stoffwechselvorgang und einer Funktion, also ein Gebiet, in dem jeder auch noch so nebelhafte Ansatzpunkt begrüßt werden muß.

Darauf, daß die hier beschriebenen Stoffwechselvorgänge durchaus geeignet sind, die Senkung des respiratorischen Quotienten zu erklären,

[18] Winter, J. C.: Ebenda **124**, 339 (1938) u. **135**, 123 (1940). — [19] Reed, L. L., W. E. Anderson u. L. B. Mendel: J. biol. Chem. (Am.) **96**, 313 (1932).

ist hinzuweisen. Dieser Schluß ist aber nicht zwingend, denn derselbe Endeffekt kann sowohl durch eine Förderung der Dehydrierungen, wie auch durch Hemmung des weiteren Abbaus erzielt werden, wie wir in weiteren Versuchen noch zeigen werden.

Zusammenfassung.

Nach Beschreibung einer Methode zur Bestimmung der Gesamtfettsäuren, der Fettsäuren der Lipoide und ihrer Jodzahlen wird gezeigt, daß nach Gabe von 0,1 g/kg Coffein an Ratten die Dehydrierungen besonders der Fettsäuren der Neutralfette begünstigt werden, besonders bei peroraler Zufuhr und vor allem bei chronischer Darreichung zunehmend mit der Zeit. Die Zunahme der Jodzahl beweist, daß eine Leberschädigung durch Coffein nicht eintritt.

Die Dehydrierung ist bei den Lebern am stärksten, die den geringsten Fettgehalt haben.

Die Bedeutung dieser Reaktion für pharmakologische und physiologisch-chemische Fragen wird diskutiert.

Aus dem Zahnärztlichen Institut (Direktor: Prof. Dr. H. Euler) und dem Institut für Pharmakologie und experimentelle Therapie (Direktor: Prof. Dr. O. Eichler) der Universität Breslau.

Über die Wirkung von Fluor in organischer Bindung auf das Zahnsystem der Ratte.

Von

Hermann Euler und Oskar Eichler.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 1. Januar 1942.)

Viele anorganische Substanzen werden in ihrer Giftwirkung völlig verändert, wenn sie in organische Bindung gelangen. Es handelt sich hier um ein bekanntes Prinzip der Maskierung, wie es in der Arzneimittelsynthese üblich ist und zu großen Erfolgen geführt hat. Wir erinnern nur an das Arsen und das daraus entwickelte Salvarsan. Jedoch ist solche Maskierung anscheinend nicht immer möglich. So etwa beim Quecksilber, dessen Wirkung auf Darm, Niere und Stomatitis auch in organischer Verbindung durchschlägt [1]. Hg ist jedoch ein großes und schweres Atom, so daß das Überwiegen verständlich ist. Schließlich ist aber auch bei den leichteren Elementen doch noch wenigstens ein Teil der ursprünglichen Wirkung vorhanden, so beim Salvarsan manche As-Effekte in Leber usw.

Man wird es für um so unwahrscheinlicher halten, solche Befunde zu erheben, zu je tieferen Ordnungsnummern im periodischen System man herabkommt, z. B. beim Chlor (Atomgewicht 35,5, Ordnungszahl 17) ist eine Ähnlichkeit nicht mehr aufzufinden. Weder wenn man das ionisierte Chlorid noch das molekulare Cl_2 heranzieht, kann man etwa mit Chloroform ($CHCl_3$) oder Äthylchlorid (C_2H_5Cl) eine Gleichheit entdecken. Cl ist in dem Molekül untergegangen, obwohl es z. B. in Chloroform dem Gewicht nach den weit überwiegenden Anteil des Moleküls ausmacht. Beim Brom (Atomgewicht 79,9, Ordnungszahl 35) ist eine Differenz schwerer herauszustellen, weil zwar das gasförmige Br_2 seine spezielle lokale Wirkung besitzt, aber Bromid wirkt auf das Zentralnervensystem genau so beruhigend und schließlich narkotisierend wie die meisten organischen Bromverbindungen der aliphatischen Reihe, obwohl wir wissen, daß in organischen Verbindungen Bromid als Halogen seine Wirkung ähnlich Cl entfaltet. Aber abgesehen davon gibt es auch hier Unterschiede, z. B. werden Verbindungen der Fettsäurereihe, etwa Bromipin, eine Bromverbindung des Sesamöls, zu dem Zwecke verabfolgt, daß das Br als Br′ aus der Verbindung freigesetzt wird und als solches, jedoch protrahiert zur Wirkung

[1] Heubner, W.: Heffter-Heubners Handbuch der experimentellen Pharmakologie III, 2, 621. Berlin, Springer, 1934.

gelangt. Werden die Halogene nicht in aliphatischer, sondern in aromatischer Bindung verabfolgt, wie p-Dichlorbenzol, dann ändert sich ihr Charakter völlig.

Beim Fluor haben wir ein Element vor uns, dessen niederes Atomgewicht 19,0 mit der Ordnungszahl 9 den Verdacht aufkommen lassen wird, daß die bei Cl′ und meist auch beim Br′ gut ausführbare Maskierung hier leichter gelingen wird. Das elementare Fluor schalten wir hier völlig aus der Betrachtung aus, da es in Berührung mit Wasser sofort in Fluorwasserstoff übergeht. Wir haben es also in erster Linie mit F′ als Ausgangspunkt zu tun. Würden wir aus der akuten Wirkung von anorganischem Fluorid im Vergleich mit der von organischen Fluorverbindungen über die Maskierung etwas aussagen wollen, dann würden wir, wegen der vielfachen Komplikationen — so z. B. der Fällung von CaF_2 — eine nur undeutliche Antwort erhalten können. Nun gibt das Fluorid in chronischer Anwendung[4,5] eine so charakteristische Beeinflussung des Knochen- und Zahnsystems, daß hier eine eindeutige Antwort erhältlich war. Untersuchungen in dieser Richtung wurden schon ausgeführt[2,3] und eine völlige Unübersichtlichkeit betreffs der Konstitution gefunden. So wirkte nach Kempf und Nelson[2,3] Fluornaphthalin auf die Knochen nicht ein, jedoch p-p-Difluordiphenyl, p-Fluorbenzoesäure und Fluorbenzol. Es ist in diesen Versuchen nicht erwiesen, ob die Verbindungen als solche oder nach Zersetzung, also analog dem vorher erwähnten Bromipin einwirken, denn die Nahrung enthielt bis 0,05% F, so daß auch nach vorheriger Zersetzung eine F-Wirkung theoretisch zu erwarten gewesen wäre. Wir begannen vor 4 Jahren mit analogen Versuchen, anfangs ohne Kenntnis der oben erwähnten, aber durch Verbreiterung der Basis konnte man die Hoffnung haben, daß schließlich eine Gesetzmäßigkeit zu finden sein könnte. Wir berichten zuerst nur über unsere Versuche mit Fluortyrosin, weil wir in diesen Versuchen eine Reihe von Antworten erhalten haben, die von Interesse sind.

Methodik.

Ratten wurden als Versuchstiere gewählt, da sie besonders geeignet erschienen, weil sie in den Schneidezähnen permanent wachsende Zähne besitzen, während die Backenzähne persistieren. Die Ernährung bestand in Kartoffeln, Gerstenschrot, Kleie, Haferflocken, Magermilch und Mohrrüben, war also vielseitig genug, um eine genügende Vitaminversorgung zu gewährleisten. Die Zufuhr aller dieser Nahrungsmittel war möglich, weil die Versuche noch vor Beginn des Krieges stattfanden. 3-Fluortyrosin

[2] Kempf, C. A., u. V. E. Nelson: Proc. Iowa Acad. Sci. **43**, 197 (1936). Die Autoren geben keine näheren Angaben. — [3] Kempf, C. A., u. V. E. Nelson: J. Labor. clin. Med. (Amer.) **22**, 1133 (1937). — [4] Rost, E.: Arch. f. Gewerbepathologie **8**, 256 (1937). — [5] Roholm, K.: Fluorine Intoxication. Kopenhagen u. London 1937.

wurde durch die Schlundsonde täglich zugeführt, außer Sonntags. Die Dosierung betrug 2—20 mg/kg. Die hohen Dosen wurden nicht gut für längere Zeit vertragen. Offenbar ergibt sich eine Kumulation, da bei Wiederholung am 2. Tage schon die in Aufregungszuständen bestehenden Vergiftungssymptome zustande kamen, selbst wenn sie am ersten Tage nicht vorhanden waren. Die Symptome entsprachen den Befunden, wie sie Litzka[6, 7] fand, der diese Verbindung zuerst untersuchte. Wir brauchen sie nicht nochmals zu beschreiben. Jedoch sollen hier einige Zahlenangaben über unsere insgesamt 25 Versuchstiere angeschlossen werden:

20 mg/kg: 6 Tiere, 1 Tier starb bei der ersten Gabe, 4 nach der zweiten, 1 Tier vertrug viermalige Zufuhr.
10 „ 6 Tiere. Die Tiere wurden meist kachektisch, starben nach 4 Wochen oder wurden vorher getötet.
7,5 „ 4 Tiere, bis zu 65 Dosen wurden verabfolgt, teils getötet, teils spontan gestorben.
5 „ 7 Tiere, bis 89 Dosen wurden vertragen, aber ohne Gewichtszunahme, sondern eher mit Verlust. Tiere getötet.
2 „ 2 Tiere, mit 126 und 156 Dosen, getötet.

Bei großer Gabe gelang es uns nie, eine Gewichtszunahme der Tiere zu erzielen, wie Niedner[8] bei Mäusen. Im Gegenteil verloren die Ratten an Gewicht und wurden regelrecht kachektisch, bevor sie bei längerer Darreichung zugrunde gingen. Wir warteten meist nicht so lange, sondern töteten sie zur histologischen Untersuchung. Insgesamt wurden 25 Tiere untersucht (dazu 35 Tiere mit NaF zur Kontrolle).

Resultate.

Uns interessieren die Veränderungen am Knochen und besonders an den Zähnen, die gerade gegen anorganisches Fluorid sich als besonders empfindlich erwiesen haben. Als erstes makroskopisches Symptom fiel auf, daß die Zähne ausfielen oder leicht abbrachen. Nach Roholm werden wir folgende Symptome bei anorganischem NaF zu erwarten haben und mit diesen haben wir hier vor allen Dingen den Vergleich zu ziehen: Man findet dabei im Knochen Halisterese, Neubildung von minderwertigem Knochen, wobei eine regelrechte Osteosclerose auftreten kann. Eine Knochenumbildung kann sich auch metaplastisch auf Bindegewebe, wie z. B. Gelenkknorpel und Bänder, erstrecken. An den Zähnen fällt bei der Ratte die streifenförmige Verfärbung der Schneidezähne auf. Dabei wird die Verkalkung, Schmelz und Dentinbildung unregelmäßig. Bei höheren Dosierungen geht die Farbe völlig verloren, die Zähne werden opak. Sie drehen sich (siehe darüber Pachaly[9]) und wachsen aneinander vorbei.

[6] Litzka, G.: Klin. Wschr. **1936**, S. 1568. — [7] Litzka, G.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **183**, 427 u. 436 (1936). — [8] Niedner, K.: Z. Krebsforsch. **51**, 159 (1941). — [9] Pachaly: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **166**, 1 (1932).

Dadurch oder durch die Brüchigkeit und das Abbrechen der Antipoden fehlt die Abnutzung, so daß sie ungehemmt weiterwachsen und sich rückwärts krümmen. Sehr schöne Bilder darüber gibt Roholm[5,10].

Von diesen Erscheinungen wurden von uns die Streifungen und der Verlust der Farbe weniger beobachtet. Aber auch bei unseren parallellaufenden Kontrollen, die mit anorganischem Fluorid behandelt wurden, kam das erst nach sehr langdauernder Behandlung von 5—10 mg/kg NaF zum Vorschein. Dagegen fanden sich Brüchigkeit und Wachstumsanomalien. Das wesentliche Gewicht müssen wir jedoch auf die histologische Untersuchung legen. Bei dieser Untersuchung fand sich auch die Ursache für das Ausfallen der Zähne in einer Osteoporose bzw. Halisterese gerade bei den Alveolarfortsätzen der Zähne. Diese Teile des Knochens müssen als die durch den Kauakt bei weitem am meisten beanspruchten Skeletteile angesprochen werden. Über diese Befunde wird an anderer Stelle berichtet[11]. Um die Brüchigkeit der Zähne zu illustrieren, legen wir Abb. 1 von dem Schneidezahn der Ratte vor. Die Pulpahöhle ist durch die leichte Abnutzbarkeit geöffnet. Weiterhin ist die Dentinschichtung und die schlechte Verkalkung mit Verbreiterung des Interglobulardentins sichtbar, die zu der Marmorierung auf dem Bilde führt.

Abb. 1. Nagezahn im Oberkiefer nach Fluorgabe (31 mal 10 mg/kg Fluortyrosin). Starke Dentinveränderung, Schichtung im Dentin, starke Abkauung und Freilegung der Pulpa. (Lupe, Okk. 6, $3'_4$ Balg.)

Auf Abb. 2 ist ein ganz besonders schweres Bild von Nekrose sichtbar. In den nekrotischen Partien finden wir kleine, dunkel angefärbte Globuli. Diese Globuli werden als charakteristisch für die Fluoridwirkung angesehen, und zwar sollen sie aus Calciumfluorid bestehen. Die Tendenz, entsprechende Bildungen als CaF_2 anzusprechen, kehrt seit Tappeiners

[10] Roholm, K.: Erg. inn. Med. **57**, 822 (1939). — [11] Euler, H., u. O. Eichler: Deutsche Zahn-, Mund- u. Kieferheilkunde Bd. 9, H. 1 (1942).

ersten Versuchen mit NaF [12] immer wieder. Genau dieselben Bilder, wie er sie beschrieb, wurden niemals wiedergesehen. Man ging deshalb dazu über, die Kalkglobuli dafür anzusehen. Dagegen ist prinzipiell zu sagen, daß die Löslichkeit von CaF_2 viel zu hoch ist, um eine solche Ansammlung im Gewebe zu ermöglichen. Wegen seiner hohen Löslichkeit wirkt CaF_2 fast ebenso lokal nekrotisierend wie die leichter löslichen Fluoride. Daß es sich nicht um solche Kristalle handeln kann, sondern um eine Form pathologischer Kalkablagerung, zeigen unsere Versuche, von denen wir ein Beispiel auf Abb. 2 wiedergegeben haben. Die Zufuhr von F erfolgte hier nicht in anorganischer Form und in unterminimaler Dosierung.

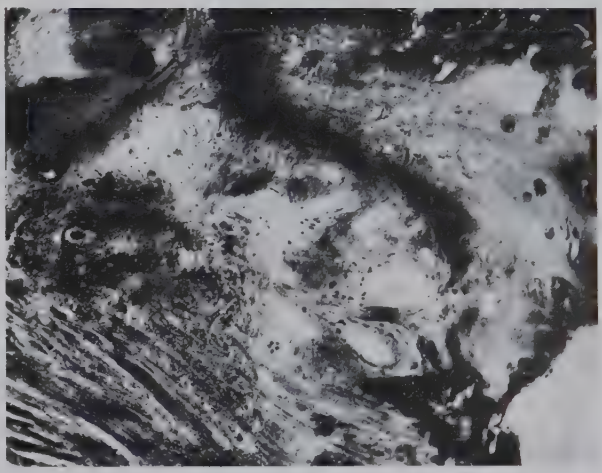


Abb. 2. Parodontalgebiet im Molarenbereich des Unterkiefers (10 mg kg Fluortyrosin, 14 mal verabfolgt). Weitgehende Nekrose bis in die Muskelansatzstelle hinein. Die schwarzen Pünktchen nach Westin Fluor-Kalk. (Obj. 5,5; Okk. 6, $^1/_2$ Balg.)

Abb. 3 zeigt im Gebiet des Nagezahnparodontiums Neubildung von Osteoid.

Abb. 4 zeigt den Beginn von Verkalkung des neugebildeten Gewebes, wie aus den dunklen Stellen ersichtlich. Daneben findet sich eine Sklerose des Knochens. Nur zwei größere Markräume sind erhalten geblieben. Die Odontoblasten sind hier gut erhalten.

Abb. 5 ist ein Bild aus der Gegend der Backenzähne. Neben einer minderwertigen Knochensklerose ist eine gleichmäßige Verbreiterung des Periodontalraums besonders deutlich sichtbar. Außerdem ist ein Epitheltiefenwachstum zwischen den Zähnen bemerkenswert. Es handelt sich

[12] Brandl, J., u. H. Tappeiner: Z. Biol. **28**, 518; Tappeiner, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **27**, 108 (1890).

hier auch um eine Wirkung, die ebenso nach Gabe von anorganischem Fluorid zu finden war und etwa dem Bilde der Parodontose entsprach. Die Parodontose ließ sich, wie an anderer Stelle[11] näher ausgeführt wird,

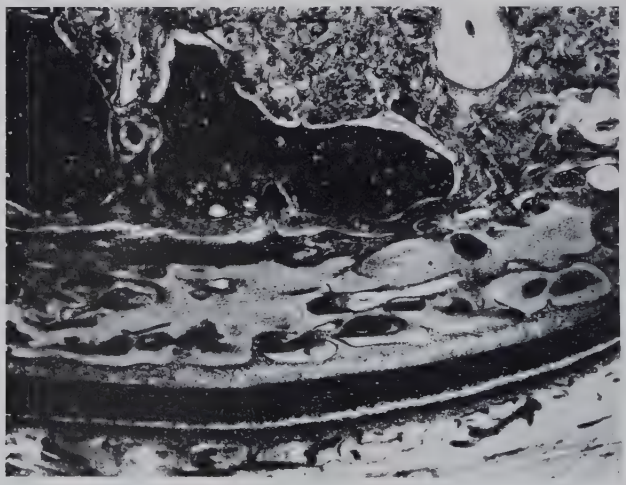


Abb. 4. Nagezahnparodontium im Unterkiefer (10 mg kg Fluortyrosin, 31 mal verabfolgt). Nach sehr starker Resorption und anschließender Osteoidbildung beginnende Verkalkung im parodontalen Knochen. Das übrige Knochenbild zeigt Osteosklerose. (Lupe, Okk. 6, $^3/_4$ Balg.)

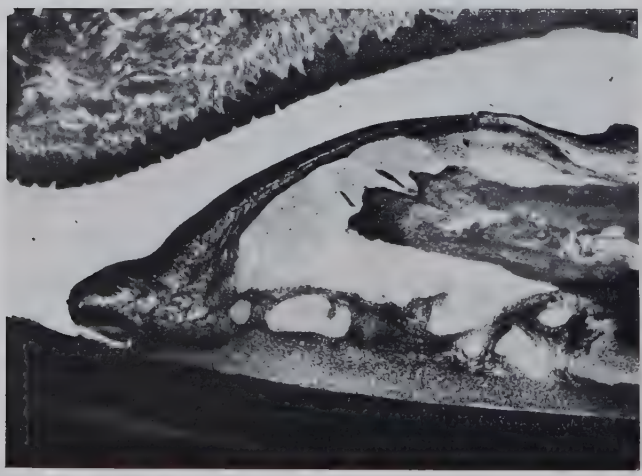


Abb. 3. Nagezahnparodontium im Unterkiefer (10 mg/kg Fluortyrosin 31 mal verabfolgt). Reichliche Osteoidbildung nach starkem Knochenabbau am Alveolarfortsatz. (Lupe, Okk. 6, $^3/_4$ Balg.)

auf eine primäre Schädigung des Alveolarfortsatzes und damit zugleich des Zahnhalteapparates zurückführen. Diese Schädigung begünstigt das Eindringen von Bakterien, führt zu Bildern wie auf Abb. 5 und in Fortsetzung zu weiterem Verschieben des Epithels mit Ausfallen der Zähne. Ob Fluortyrosin oder NaF verabfolgt wurde, war gleichgültig.

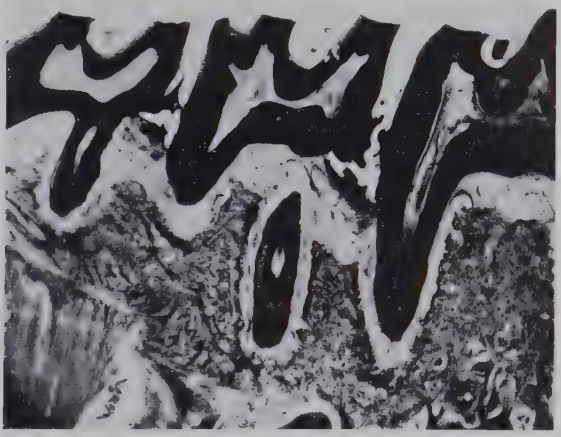


Abb. 5. Parodontium im Molarengebiet des Unterkiefers (10 mg/kg Fluortyrosin, 31 mal verabfolgt), Periodontalraum stärker verbreitert, fortschreitendes Epitheltiefenwachstum. Minderwertige Knochensklerose. Pulpa der Molaren teilweise in nekrotischem Zustand. (Lupe, Okk. 6, $^3/_4$ Balg.)

Diskussion.

Mit unseren Versuchen ist jetzt einwandfrei erwiesen, daß Fluorid auch in organischer Bindung die gleichen Effekte hervorrufen kann. Das Wesentliche ist die Dosierung. Nach unseren Versuchen sind bei 2 mg/kg Fluortyrosin gerade noch Veränderungen im histologischen Bilde angedeutet. Da die Verbindung zu 9,55% aus F besteht, würde die Grenze der Wirksamkeit etwa bei 0,2 mg/kg F liegen. Eds und Thomas[13] haben für NaF die gerade noch wirksame Grenzkonzentration mit 1,2 mg% der Nahrung angegeben. Um die Zahlen vergleichen zu können, folgen wir der Berechnung von Roholm[5], nach der die Ratte täglich 8 g Futter pro 100 g zu sich nimmt, d. h. 80 g/kg. Damit würde die gerade wirksame Menge mit 1 mg/kg F anzugeben sein, bzw. nach dem Kriterium obiger Autoren[13] würde die Hälfte keine Wirkung mehr erkennen lassen. Zu demselben Grenzwert kommt auch Roholm (5, S. 280).

Wir finden also, daß das Fluorid in Fluortyrosin wirksamer ist als in NaF. Eine vorherige Zersetzung der Verbindung, wie man sie in den Versuchen von Kempf und Nelson[2, 3] noch annehmen könnte, ist also nicht möglich, da wir sonst nicht diese hohe Wirksamkeit erreichen könnten. Es ergeben sich damit zugleich noch zwei weitere Folgerungen.

[13] Eds, F., u. J. O. Thomas: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Amer.) **31**, 824 (1934).

Die auf Abb. 2 abgebildeten Kalkglobuli können sich nicht aus CaF_2 zusammensetzen, weil zum mindesten die vorherige Zersetzung von Fluortyrosin notwendig wäre, die wiederum zu einer Giftigkeitsminderung führen würde. Nach der kumulativen Wirkung bei den hohen Dosen auf unserer vorher gegebenen Gesamtübersicht ist das gar nicht einmal anzunehmen.

Weiterhin zeigt sich, daß die Art der Fluoridwirkung auf den Knochen nicht durch eine Phosphatasewirkung erklärt werden kann, denn nach Untersuchungen von Hindemith[14] ist weder eine Phosphataselähmung noch eine andere übliche Fermentwirkung merklich. Nun ist nach der Theorie und den Untersuchungen von Robison der sogenannte anorganische Mechanismus, d. h. die Fällung und Einlagerung des Knochenapatits in die Knochenmatrix gegen F′ empfindlicher. Diesen Vorgang zu untersuchen bleibt noch übrig.

Wenn hier eine charakteristische Fluoreinwirkung sogar durch kleinere F-Mengen erzielbar ist als durch die anorganische Verbindung, dann kann man einfach sagen, es läge am ganzen Molekül. Diese Formulierung ist unbefriedigend, wenn eine so charakteristische Wirkung gerade eines Bestandteils des Moleküls in den Vordergrund tritt. Es müßte dann die Komplexbildung mit bestimmten Schwermetallen (Mg, Zn usw.), die der F-Wirkung möglicherweise allgemein zugrunde liegt, wie neuere Untersuchungen von Warburg und Christian[15] erweisen, auch für dieses Molekül angenommen werden, oder man muß nach anderen Vorstellungen suchen. Da wäre die besondere Verteilung heranzuziehen entweder durch Ladung des Moleküls usw. Diese Wirkungen sollen aber an zahlreichen anderen organischen Fluorverbindungen weiter verfolgt werden, um zu versuchen, Einblicke in den Zusammenhang zwischen Konstitution und Wirkung zu erlangen.

Hemmend für die Entfaltung der vollen Fluorwirkung ist die hohe Giftigkeit des Moleküls auf andere Systeme des Organismus — etwa auf das Zentralnervensystem —, die eine Steigerung der Dosis nicht gestattet*. Deshalb haben wir bei Fluortyrosin zwar zahlreiche F-Wirkungen, aber erstens sind sie an sich milder und dann sind Veränderungen, wie wir sie nur bei hohen Dosen von NaF sehen, wie die Exostosen usw. von uns gar nicht produziert worden. Uns kam es hier nur auf das Prinzip an. Es zeigte sich, daß ganz gegen die Erwartung das leichte F sich auch in einem großen Molekül durchsetzen kann.

[14] Hindemith, H.: Versuche, die in anderer Zusammenfassung publiziert werden. — [15] Warburg, O., u. W. Christian: Naturw. **1941**, S. 589.

* Die histologischen Untersuchungen der anderen Organe werden später noch veröffentlicht werden.

Zusammenfassung.

Nach chronischer Vergiftung mit hohen Dosen von Fluortyrosin lassen sich genau die gleichen Veränderungen am Knochen erzielen wie bei anorganischem Fluorid. Die dazu nötige Dosis an Fluor ist geringer, also wird durch die organische Bindung die F′-Wirkung gesteigert. Sie kann demnach nicht erst nach Zersetzung eintreten, sondern bedarf des ganzen Moleküls. Die Steigerung bedeutet aber nicht, daß die Schwere der Giftwirkung von F erreicht wird. Das wird durch die sonstige hohe Giftigkeit des Fluortyrosins verhindert.

Die nach F-Gabe in den Knochen sich findenden merkwürdigen Kalkglobuli können nicht aus CaF_2 u. dgl. bestehen, da sie auch bei unseren Versuchen zu sehen waren.

Mitteilung aus der biologischen Abteilung von Løvens kemiske Fabrik, Kopenhagen.

Choriongonadotropin und Anaphylaxie in vivo.

Von

H. Kjems und **K. Pedersen-Bjergaard.**

(Eingegangen am 5. Januar 1942.)

Vor mehreren Jahren haben wir die Beobachtung gemacht, daß das gonadotrope Hormon, hergestellt aus dem Harn schwangerer Frauen, das „Choriongonadotropin" bei Injektion an Meerschweinchen imstande ist, diese Tiere überempfindlich zu machen, indem eine spätere intravenöse Injektion vom gleichen Stoff in der Lage ist, einen anaphylaktischen Schock mit tödlichem Ausgang hervorzurufen. Weil unsere Resultate aber damals anscheinend sehr uneinheitlich waren, und da das Problem als solches uns übrigens nicht von größerem Interesse zu sein schien, weil das Choriongonadotropin im Hinblick auf die Therapie als ein arteigener Stoff betrachtet werden muß, außerstande, die Überempfindlichkeit im menschlichen Organismus hervorzurufen, die man in der Lage war, im artfremden Meerschweinchenorganismus hervorzurufen, beschlossen wir, die weitere Untersuchung dieses Problems bis auf weiteres zu verschieben.

Das Problem ist aber anderswo bearbeitet worden. So hat van den Ende im Jahre 1939 (1 u. 2) teils durch Anwendung des Präcipitintestes, teils durch Anwendung der Daleschen Methode (3) gezeigt, daß Harnextrakt Choriongonadotropin enthaltend bei Injektion an Kaninchen und Meerschweinchen zwei Arten von Antikörpern hervorruft, und zwar: einen Antikörper, der mit Humanprotein, selbst nach Desensibilisierung mit Choriongonadotropin Harnextrakt, reagiert, und einen Antikörper, der mit Choriongonadotropin Harnextrakt, selbst nach Desensibilisierung mit Humanprotein, reagiert. Er schloß hieraus, daß der Harnextrakt zwei Antigene enthielt: ein gewöhnliches Serumprotein-Antigen und ein spezifisches Harn-Antigen.

van den Ende fand ferner, daß Choriongonadotropin von fünf verschiedenen Fabriken alle das sogenannte spezifische Antigen enthielten, und daß die vier Präparate ferner das sogenannte gewöhnliche Antigen enthielten, das indessen im fünften Präparat: Physex, nicht vorhanden war.

Diesen Befund fanden wir sehr interessant, und als wir gleichzeitig außer einem Physexpräparat, das in Zusammensetzung und Reinheit demjenigen, das van den Ende in seinen Versuchen angewandt hatte (Physex Nr. 390801), entsprach, das Glück hatten, ein noch reineres Physexpräparat (Nr. 402) in Händen zu haben, beschlossen wir, unsere früheren Versuche über die Fähigkeit der Choriongonadotropinpräparate,

Anaphylaxie an Meerschweinchen hervorzurufen, wieder aufzunehmen. Hierdurch hofften wir konstatieren zu können, ob das spezifische Antigen, das Physex Nr. 390801 nach van den Endes Untersuchungen ausschließlich enthielt, das Hormon selbst oder ob es ein Begleitstoff sei, was wir für wahrscheinlich halten würden, falls das reinere Physex Nr. 402 entweder nicht sensibilisierend oder weniger sensibilisierend an Meerschweinchen als Physex 390801 wirken würde.

Ein Choriongonadotropinpräparat kann gekennzeichnet werden durch: 1. die rein hormonale Wirkung, auf der Fähigkeit beruhend, bei gewissen Tierarten Geschlechtsreife hervorzurufen, wenn es an infantilen Tieren injiziert wird, 2. die antihormonale Wirkung, auf der Fähigkeit beruhend, bei gewissen Tierarten die Bildung von Antihormonen im Serum hervorzurufen und, 3. die antigene Wirkung, auf der Fähigkeit beruhend, bei gewissen Tierarten die Bildung von Antikörpern im Serum hervorzurufen. Was die hormonale Wirkung anbelangt, verwendet man zur Eichung des Hormongehalts biologische Methoden in Übereinstimmung mit dem internationalen Memorandum M. 40 (4). Wir werden hier nicht die Technik der Eichung detaillieren, nur möchten wir anführen, daß der Choriongonadotropingehalt unserer Präparate in internationalen Einheiten angegeben ist, mit dem internationalen Standard als Vergleichsgrundlage gemessen. Was die antihormonale Wirkung betrifft, liegen unseres Wissens keine Mitteilungen vor, die zeigen, daß das Choriongonadotropin an Menschen die Bildung von Antihormon hervorgerufen hat, und gleichfalls kann von der antigenen Wirkung gesagt werden, daß man kaum anaphylaktische Symptome an Menschen im Anschluß an die Behandlung mit Choriongonadotropin beobachtet hat. Etwas anderes ist, daß man durch Eichung der antigenen Stärke eines Präparats an Meerschweinchen möglicherweise einen Ausdruck für die Reinheit und Eignung des Präparats für klinische Zwecke finden kann. Hierauf werden wir im nachstehenden näher eingehen.

In unseren Versuchen haben wir nur Choriongonadotropin in ungeschwächter Form, aber von verschiedener Reinheit verwendet. Da das Hormon in wässeriger Lösung wenig stabil ist, sind stets frische Lösungen zu allen Untersuchungen hergestellt worden, ebenso ist der biologische Effekt, weil die Versuche sich über einen längeren Zeitraum erstreckt haben, häufig kontrolliert worden.

Die Zahl der Untersuchungen betr. den antigenen Charakter des Harns ist nicht groß. Kamekura (5) hat bei subcutaner Injektion von Harn an Meerschweinchen gezeigt, daß chemisch eiweißfreier Harn in der Lage ist, Meerschweinchen zu sensibilisieren. Harn für die Reinjektion wurde zu $^1/_3$ Volumen konzentriert und dialysiert. Vom Dialysat wurden 4 ccm in Vena jugularis eingeführt. Die Sensibilisierung war artspezifisch, indem mit Menschenharn vorbehandelte Meerschweinchen Pferde- oder Hundeharn gegenüber nicht überempfindlich waren. Die Anaphylaxieresultate

fielen mit gleichzeitig ausgeführten Präcipitinreaktionen völlig zusammen. Doerr und Pick (6) haben andere Resultate mit der Präcipitinreaktion erreicht, Kamekura aber meint, daß Doerr und Pick beim Arbeiten mit dem „Trübungstest" an Stelle des Ringtestes unspezifische „Trübungsreaktionen" erreicht haben, und daß solche auch mit Harn und Normalserum allein vorkommen können. van den Ende (2) hat mit Harnextrakten nachgewiesen, daß aktive Sensibilisierung größere Empfindlichkeit Serumantigen gegenüber als passive Sensibilisierung gibt und meint, daß dieser Unterschied durch den Inhalt von Spuren von Serumprotein in den Harnextrakten erklärt werden kann.

In der vorliegenden Arbeit haben wir ausschließlich Meerschweinchen als Versuchstiere verwendet. In allen Versuchen ist aktive Sensibilisierung, um eine möglichst kräftige Überempfindlichkeit hervorzurufen, angewendet worden. Man hat ferner darauf Wert gelegt, daß der durch die verschiedenen Präparate hervorgerufene Antikörper genau austitriert worden ist, so daß man einen quantitativen Ausdruck für die antigene Stärke der Präparate erhalten hat. Sensibilisierungsdosis ist in drei subcutanen Injektionen am 1., bzw. 6. und 11. Tag des Versuches verteilt worden. Schockdosis ist am 25. Tag des Versuches intravenös verabreicht worden. Die intravenöse Injektion wurde in die entblößte Vena jugularis gegeben, die unterbunden wurde, damit das Tier nicht verblute. Nach der Injektion wurde die Haut über der Eingriffsstelle möglichst schnell mit ein paar Agraffen geschlossen. Während des ganzen Eingriffs war das Meerschweinchen auf einem passenden Operationstisch festgespannt. Narkose hat man nicht angewendet, da der anaphylaktische Schock oft in fast unmittelbarem Anschluß an die Injektion auftritt und am besten an normalen, nicht narkotisierten Tieren beobachtet wird. Als positive Reaktion haben wir den charakteristischen anaphylaktischen Schock gerechnet, der in der Regel damit beginnt, daß das Tier sich an der Schnauze kratzt, Atemnot, Husten, Abgang von Harn bekommt und danach bisweilen sehr heftige Krämpfe, die tödlichen Ausgang haben. Bisweilen endet der Schock nicht mit dem Tod des Tieres, aber diese milderen Schocks sind nicht als positiv gerechnet worden. Als eine Bedingung für die positive Reaktion haben wir gerade Schocks mit tödlichem Ausgang verlangt.

Wir führten nun jungen Meerschweinchen, Gewicht 200—250 g, in Gruppen von 10—11 Stück, eine steigende Skala von Dosen der beiden Physex-Präparate Nr. 390801 und Nr. 402 zu, nachdem einige orientierende Versuche die ungefähre Größenordnung, die wir anwenden sollten, gezeigt hatten. Die Resultate ersieht man aus Tabelle 1.

Man bemerkt sofort die sehr springenden Resultate in Tabelle 1, wo man durch Anwendung einer konstanten Schockdosis nicht eine steigende Prozentzahl positiver Tiere mit steigenden Sensibilisierungsdosen erhält. Die angewendete Versuchstechnik mußte daher etwas grundsätzlich Un-

Tabelle 1.

Präparat Nr.	Sensibilisierungsdosis I. E.	Schockdosis Zimmertemperatur I. E.	Schockdosis gegeben am	Anzahl Tiere	% positive Tiere
402	150	500	21. V.	10	30
402	300	500	14. V.	10	50
402	600	500	11. VI.	22	22,7
402	1200	500	18. VI.	10	50
402	2400	500	2. VII.	11	0
390 801	$^3/_4$	500	4. VI.	11	0
390 801	$1^1/_2$	500	14. V.	10	20
390 801	3	500	25. VI.	10	0
390 801	6	500	18. VI.	11	18,1

richtiges umfassen, indem man von den großen und gründlichen Arbeiten von Walzer und Grove (7) weiß, daß es möglich ist, mit dem anaphylaktischen Test an Meerschweinchen quantitativ zu arbeiten. Es schien uns besonders merkwürdig, daß niedrige Sensibilisierungsdosen bis zur Hälfte der Tiere überempfindlich machen konnten, wenn die mehrfache Sensibilisierungsdosis überhaupt nicht in der Lage war, einen solchen Grad von Überempfindlichkeit hervorzurufen, daß man mit der darauffolgenden intravenösen Injektion einen anaphylaktischen Schock auslösen konnte.

Es zeigte sich nun, daß die verhältnismäßig gute Sensibilisierung mit den niedrigen Dosen zu einer Jahreszeit, wo die Temperatur noch recht niedrig war, erzielt wurde. Im Laufe der folgenden Zeit stieg die Temperatur stark, um Anfang Juli zu kulminieren, zu der Zeit, wo überhaupt keine Überempfindlichkeit bei Meerschweinchen, die mit 16mal der Dosis von Präparat Nr. 402, die im Mai bei 30 v. H. der Versuchstiere Überempfindlichkeit hervorgerufen hatte, vorbehandelt waren, nachgewiesen werden konnte. Die Temperatur der Lösung, die intravenös injiziert wurde, hat vermutlich innerhalb der Grenzen 12 und 30° C geschwankt.

Um nun den Einfluß der Temperatur genauer zu untersuchen, wählte man die Wiederholung der Versuche von Tabelle 1, diesmal aber unter Anwendung einer Schockdosis von konstanter Temperatur. Da man von vornherein damit rechnen mußte, daß die niedrige Temperatur die besten Bedingungen für die Erreichung des anaphylaktischen Schocks schuf, wurde die Lösung in eine Flasche gegossen, eine Viertelstunde vor der Anwendung in Eiswasser gebracht, und Lösung sowie Injektionsspritze wurden während des ganzen Versuchs sorgfältig abgekühlt gehalten. Die Resultate gehen aus Tabelle 2 hervor.

Wie man aus Tabelle 2 ersieht, zeigte es sich tatsächlich, daß Physex Nr. 390801 bei Anwendung von abgekühlter Schockdosis mit steigenden Sensibilisierungsdosen eine steigende Anzahl positiver Reaktionen gab. So bewirkten die drei in Tabelle 2 angegebenen höchsten Sensibilisierungsdosen von 24 bzw. 48 und 96 I.E. von Nr. 390801 tödlichen Schock bei sämtlichen Tieren bei Anwendung von abgekühlter Dosis, während keine der

Tabelle 2.

Physex Nr.	Sensibilisierungsdosis I. E.	Schockdosis etwa 2 3° C I. E.	Schockdosis gegeben am	Anzahl Tiere	% positive Tiere
402	300	500	24. IX.	10	30
402	600	500	27. VIII.	11	27,2
402	1200	500	3. IX.	11	36,3
402	2400	500	3. IX.	10	40
402	4800	500	10. IX.	11	0
402	9600	500	10. IX.	11	0
390 801	$^3/_4$	500	20. VIII.	11	0
390 801	$1^1/_2$	500	20. VIII.	11	18,2
390 801	3	500	9. VII.	11	45,5
390 801	6	500	27. VIII.	17	69,7
390 801	12	500	2. VII.	17	86,4
390 801	24	500	9. VII.	11	100
390 801	48	500	16. X.	11	100
390 801	96	500	16. X.	11	100

Tiere in einer analogen Reihe, wo Schockdosis von Zimmertemperatur angewendet wurde, starben. Eine erschöpfende Erklärung dieser Erscheinung können wir nicht geben. Es leitet gewissermaßen den Gedanken auf die Kälteagglutininen hin, deren am meisten hervortretendes Kennzeichen ist, daß sie, um in Funktion zu treten, in der Regel niedrige Temperaturen um 0—5° C fordern. Obwohl die Reaktionen keineswegs auf dieses Temperaturintervall begrenzt sind, sondern sogar bei Zimmertemperatur stattfinden können, sind die Kälteagglutininen immer weitaus kräftiger und konstanter tätig bei Temperaturen um 0° C. Nun kann man zwar nicht die Kälteagglutination in vitro, wo die Temperatur während des ganzen Versuchs niedrig gehalten werden kann, mit unserem in vivo-Versuch vergleichen, wo wir eine geringe Menge (1 ccm) eiskalte Flüssigkeit in den Kreislauf eines Meerschweinchens einführen, wo die Dosis sich sofort mit dem Blute mischt, so daß die gleiche Temperatur schnell erreicht wird, ob die Schockdosis zu 0° abgekühlt gewesen ist, oder ob sie die Zimmertemperatur im Injektionsaugenblick gehabt hat. Aber es ist doch möglich, daß die Reaktion, die den anaphylaktischen Schock bedingt, momentan, wenn die eiskalte Antigenlösung mit dem Blute in Verbindung gebracht wird, entsteht.

Aus Tabelle 2 geht aber auch hervor, daß Physex Nr. 402, selbst mit der eiskalten Schockdosis, einige merkwürdige unkonstante Resultate gegeben hat. Es wäre nun denkbar, daß eine Schockdosis von 500 I.E. zwar genügt, um den anaphylaktischen Schock für das am wenigsten gereinigte Präparat, aber dagegen nicht für das hochgereinigte Präparat Nr. 402 auszulösen. Um dieses näher klarzulegen, wurden die in Tabelle 3 wiedergegebenen Versuche ausgeführt.

Man ersieht aus Tabelle 3, daß eine Erhöhung der Schockdosis von 500 I.E. auf 3333 I.E. für Präparat Nr. 402 bewirkt, daß mit steigenden

Tabelle 3.

Physex Nr.	Sensibilisierungsdosis I. E.	Schockdosis etwa 2—3° C I. E.	Schockdosis gegeben am	Anzahl Tiere	% positive Tiere
402	0,6	3333	19. XII.	11	0
402	1,2	3333	19. XII.	11	9,1
402	2,4	3333	13. I.	11	18,2
402	4,8	3333	30. XII.	11	36,3
402	9,4	3333	30. XII.	10	80
402	$18^3/_4$	3333	16. XII.	11	100
402	$37^1/_2$	3333	16. XII.	11	100
402	75	3333	18. XI.	10	100
402	150	3333	18. XI.	11	100
402	300	3333	25. XI.	10	100
402	600	3333	25. XI.	11	100
402	1200	3333	2. XII.	11	100
402	2400	3333	2. XII.	11	100
402	4800	3333	9. XII.	11	100
402	9600	3333	9. XII.	11	100

Sensibilisierungsdosen eine steigende Anzahl positiver Reaktionen vorkommt. Es ist notwendig, diese große Schockdosis anzuwenden, indem kleinere Dosen nicht imstande sind, mit Sicherheit den anaphylaktischen Schock bei sämtlichen sensibilisierten Tieren auszulösen, wie man aus Tabelle 4 ersehen kann.

Tabelle 4.

Sensibilisierungsdosis I. E.	Physex Nr.	Schockdosis etwa 2—3° C I. E.	Physex Nr.	Schockdosis gegeben am	Anzahl Tiere	% positive Tiere
4800	402	500	402	10. IX.	11	0
4800	402	1000	402	23. X.	8	50
4800	402	2000	402	23. X.	3	66,7
4800	402	3333	402	9. XII.	11	100
3	390 801	500	402	2. IX.	10	30
3	390 801	3333	402	2. IX.	10	80
3	390 801	5000	402	2. IX.	9	88,9

Wenn man nun die Werte für Präparat Nr. 390801 von Tabelle 2 und für Präparat Nr. 402 von Tabelle 3 in ein Koordinatensystem einträgt, und zwar die positiven Reaktionen in Prozent längs der Ordinatenachse und die Sensibilisierungsdosen in internationalen Einheiten längs der Abszissenachse, kann man graphisch finden, daß eine positive Reaktion bei der Hälfte der Versuchstiere mit einer Sensibilisierungsdosis von 6 I.E. für Präparat Nr. 402 und für Nr. 390801 mit $3^1/_2$ I.E. hervorgerufen wird. Man konnte hieraus schließen, daß Nr. 402 mit Bezug auf antigene Eigenschaften nur etwa halb so stark wie Nr. 390801 pro gleiche Anzahl internationale Einheiten ist, was insofern mit der extra Reinigungsstufe, der Präparat Nr. 402 unterworfen worden ist, übereinstimmt. Indessen muß man gleichzeitig berücksichtigen, daß eine $6^2{}_3$mal größere Schockdosis

von Nr. 402 angewendet worden ist, und daß der reelle Unterschied zwischen dem Antigengehalt der beiden Präparate daher wahrscheinlich größer ist, als die oben erwähnten Sensibilisierungsdosen zum Ausdruck bringen.

Um einen exakteren Ausdruck für den Unterschied zwischen dem Antigengehalt des Präparats Nr. 402 und des Präparats Nr. 390801 im Verhältnis zur hormonalen Stärke zu erhalten, wurden die in Tabelle 5 angeführten Versuche ausgeführt.

Tabelle 5.

Sensibilisierungsdosis I. E.	Physex Nr.	Schockdosis etwa 2—3° C I. E.	Physex Nr.	Schockdosis gegeben am	Anzahl Tiere	% positive Tiere
0,3	390 801	3333	402	2. IX.	11	22,2
0,9	390 801	3333	402	2. IX.	10	40
3,0	390 801	3333	402	2. IX.	10	80
21,0	402	500	390 801	15 X.	11	72,7

Man ersieht aus Tabelle 5, daß eine Sensibilisierungsdosis von 1 I.E. von Nr. 390801 eine positive Reaktion bei der Hälfte der Versuchstiere hervorruft, wenn eine Schockdosis von 3333 I.E. von Nr. 402 verwendet wird. Dieselbe Schockdosis ruft laut Tabelle 3 dieselbe Reaktion bei Tieren hervor, die mit etwa 6 I.E. von Nr. 402 sensibilisiert sind. Dieses zeigt, daß Präparat Nr. 402 pro gleiche Hormonmenge nur $^1/_6$ von der Antigenmenge des Präparats Nr. 390801 enthält.

Wie aus Tabelle 2 ersichtlich, gibt eine Schockdosis von 500 I.E. vom Präparat Nr. 390801 optimalen Effekt bei genügender Sensibilisierung, während für Präparat Nr. 402 eine Schockdosis von 3333 I.E. erforderlich war, um den entsprechenden optimalen Effekt zu erzielen (Tabelle 4). Falls das Antigen der beiden Physexpräparate identisch sei, und folglich nur ein quantitativer Unterschied zwischen dem Antigengehalt von Nr. 390801 und Nr. 402 bestehe, mußten eine Sensibilisierung mit Präparat Nr. 390801 und Schockauslösung mit der optimalen Schockdosis von Nr. 402, also 3333 I.E., und umgekehrt, die entsprechende Sensibilisierungsdosis von Nr. 402 mit der optimalen Schockdosis von Nr. 390801, also 500 I.E., dasselbe Resultat ergeben. Wie man aus den zwei untersten in Tabelle 5 angeführten Versuchen ersieht, zeigte sich, daß das sozusagen der Fall ist. Wir meinen uns daher berechtigt zu schließen, daß das spezifische Antigen, das das Präparat Nr. 390801 nach den Untersuchungen von van den Ende ausschließlich enthält, nicht das Choriongonadotropin selbst sein kann, sondern ein Begleitstoff sein muß. Den genauen quantitativen Unterschied zwischen dem Antigengehalt der beiden Präparate können wir nicht festlegen, und den Beweis dafür, ob man den genannten Unterschied auf Grund 1. der Sensibilisierungsdosis, 2. der optimalen Schockdosis oder eventuell 3. einer Relation zwischen der Sensibilisierungs- und Schockdosis berechnen muß, sind wir aber leider nicht in der Lage zu

führen, weil die vorhandenen Stoffmengen der beiden Präparate zu obenerwähnten Untersuchungen benutzt worden sind.

Eines ist wenigstens sicher. Physex Nr. 402 enthält bedeutend weniger Antigen als Nr. 390801.

Vergleicht man diese Tatsache mit der klinischen Wirkung der beiden Physexpräparate — es sei hier erwähnt, daß der Leiter der Frauenklinik des „Rigshospital" in Kopenhagen, Herr Prof. Dr. E. Rydberg, uns freundlichst mitgeteilt hat, daß die Temperatursteigerungen, die bisweilen im Anschluß an intramuskuläre Injektion an Patienten mit Physex 390801 in Dosen von 6000 I.E. vorkamen, nicht bei Patienten, die mit Physex Nr. 402 in entsprechenden Dosen behandelt wurden, konstatiert sind —, so fühlt man sich versucht, den Schluß zu ziehen, daß die unerwünschten Nebenwirkungen von Physex Nr. 390801 auf den Antigengehalt zurückzuführen sind. Es wäre daher wünschenswert, wenn Choriongonadotropinpräparate für therapeutische Zwecke nicht nur für den Hormongehalt laut dem internationalen Memorandum geeicht werden, sondern daß auch die Forderung gestellt würde, daß sie nur ein genauer definiertes Minimum Antigen enthalten dürfen.

Zusammenfassung.

Durch direkte Sensibilisierung von Meerschweinchen mit zwei Physexpräparaten (Choriongonadotropin) verschiedener Reinheit wird festgestellt:

1. Daß der Gehalt an Antigen der beiden Präparate verschieden ist;

2. daß der Unterschied zwischen dem Antigengehalt der beiden Präparate quantitativer, nicht qualitativer Natur ist;

3. daß das Antigen folglich nicht dem Choriongonadotropin selbst zugeschrieben werden kann, sondern ein Ballaststoff sein muß;

4. daß das Präparat mit dem geringen Antigengehalt nicht die klinischen Nebenwirkungen ergab, die mit dem Präparat mit dem größeren Antigengehalt hervorgerufen werden konnten.

Literatur.

1) van den Ende, M.: Precipitins in Antigonadotrophic Sera. J. Endocrinol. **1**, 156 (1939). — 2) van den Ende, M.: Urinary Gonadotrophic Extracts and Anaphylaxis in Vitro. J. Endocrinol. **1**, 356 (1939). — 3) Dale, H. H.: The Anaphylactic Reaction of Plain Muscle in the Guinea-Pig. J. Pharmacol. (Am.) **4**, 167 (1913). — 4) League of Nations Health Organisation, Memorandum M. 40 on the International Standard for the Gonadotrophic Substance of Human Urine of Pregnancy: Chorionic Gonadotrophin. London, 1939. — 5) Kamekura, R.: Untersuchungen über die Spezifizität des Antiharnserums. Z. Immunitätforsch. **42**, 439 (1925). — 6) Doerr, R., u. R. Pick: Eiweißantigene ohne Artspezifizität im normalen Harn des Menschen und verschiedener Tiere. Ebenda **21**, 463 (1914). — 7) Walzer, M., u. E. F. Grove: Studies in Specific Hypersensitiveness. XVI. On Antigens. A Comparative Study of the Antigenic Properties of Pollens, Egg-White, and Glue, in Guinea-Pigs, as determined by the Intravenous and Dale Methods of Testing in Anaphylaxis. J. Immunol. **10**, 483 (1925).

Aus dem pharmakotherapeutischen Laboratorium der Universität Amsterdam.

Über die Wirkung der Ernährungsart auf die Insulin-Schockempfindlichkeit normaler und hypophysenloser Ratten und über den Einfluß des Ernährungszustands auf die Aktivität der innersekretorischen Drüsen.

Von

Otto Riesser.

(Eingegangen am 3. Februar 1942.)

In einer vorangehenden Arbeit [Riesser (1)] war gezeigt worden, daß hypophysenlose Ratten, die mit gewöhnlichem Mischfutter, unter Zugabe von 20%iger Glucose als Getränk, gefüttert wurden, bei Injektion von bis zu 50 Einheiten Insulin pro kg Körpergewicht innerhalb $1^1/_2$ Stunden keine Anzeichen hypoglykämischen Schocks aufwiesen, vorausgesetzt, daß man ohne Vorschaltung einer Nüchternperiode bis in den Insulinversuch die Fütterung fortsetzte. Der Blutzucker hielt sich dabei, selbst unter den höchsten in jenen Versuchen angewandten Insulingaben, bei 63 mg% im Mittel. Verglichen mit nicht operierten, in gleicher Weise unter Glucosezugabe bis in den Insulinversuch hinein gefütterten Ratten erwies sich bei den hypophysenlosen Tieren der Einfluß des Insulins auf den Blutzucker, auf Muskel- und Leberglykogen, Milchsäuregehalt des Blutes und der Muskeln sowie auf die Hexosemonophosphorsäurefraktion in Muskeln und Leber in beiden Fällen als nahezu gleich (Tabelle 1). Demgegenüber steht die Tatsache, daß nach Vorschaltung einer Nüchternperiode von 18 bis 20 Stunden, wie sie bei Insulinproben fast durchweg üblich ist, hypophysenlose Ratten schon nach äußerst kleinen Dosen, nämlich etwa 1 bis 1,5 Einheiten pro kg Körpergewicht, innerhalb $1-1^1/_2$ Stunden im Koma zugrunde gehen [Kater (2)].

Im Hinblick auf diese Befunde wurde von uns hervorgehoben, daß die bekannte überaus hohe Insulin-Sckockempfindlichkeit hypophysenloser Ratten eine Folge der summierten Wirkung von Hypophysektomie und Hunger sei, und eine Erklärung hierfür wurde zu geben gesucht. Zugleich wurde betont, daß man nicht etwa annehmen dürfe, es sei durch das reichliche Angebot von Futter und vor allem von Glucose an der durch die Hypophysen-Entfernung bedingten Umstellung des Stoffwechsels selbst etwas geändert. Vielmehr müsse man annehmen, daß unter den gewählten Bedingungen das Insulin diese Umstellung nicht mehr so deutlich in Erscheinung treten lassen kann. Der Satz allerdings, daß die gesteigerte Insulin-Schockempfindlichkeit hypophysenloser Tiere überhaupt nur bei

Tabelle 1. [Aus Riesser (1).] Mittelwerte. In Klammern Zahl der Versuche.

		Blut		Muskel			Leber	
		Zucker %	Milchsäure %	Glykose %	Milchsäure %	Hexosemonophosphorsäure als Hexose %	Glykose %	Hexosemonophosphorsäure als Hexose %
Unbehandelt	normal	0,139 (11)	0,029 (9)	0,69 (10)	0,054 (9)	0,073 (7)	3,10 (12)	0,160 (11)
	Hypophysektomie	0,142 (13)	0,032 (12)	0,55 (15)	0,049 (14)	0,063 (12)	2,56 (14)	0,172 (14)
Adrenal	normal	0,208 (6)	0,040 (5)	0,35 (6)	0,083 (5)	0,118 (4)	2,63 (5)	0,170 (6)
	Hypophysektomie	0,189 (6)	0,046 (7)	0,43 (8)	0,072 (8)	0,085 (8)	2,13 (8)	0,182 (8)
Insulin	normal	0,064 (5)	0,023 (4)	0,70 (5)	0,051 (5)	0,072 (5)	2,37 (4)	0,130 (5)
	Hypophysektomie	0,063 (6)	0,028 (6)	0,40 (6)	0,057 (6)	0,073 (5)	2,12 (6)	0,140 (6)

Tabelle 2. Versuchsreihe 1. Hypophysenlose Ratten, 8 Tage post oper.

Gruppe	Tier Nr.	Gewicht in g vor	Gewicht in g nach	Abnahme %	Futter	Hunger?	Insulin	Koma?
I	1	170	146	14	gewöhnliches + Zucker	ja	0,2 Einh.	nach 60′
	2	192	175	9	„ „	nein	0,2 „	keines
	3	176	152	14	gewöhnliches	ja	0,2 „	nach 40′
	4	196	165	16	„	nein	0,2 „	keines
II	5	196	156	20	gewöhnliches + Zucker	ja	0,2 „	nach 20′
	6	176	156	11	„ „	nein	0,2 „	keines
	7	182	148	19	gewöhnliches	ja	0,2 „	nach 30′
	8	173	159	8	„	nein	0,2 „	keines

gleichzeitigem Hunger eintrete, kann in dieser Form nicht aufrechterhalten werden. Sie wird durch Hunger nur außerordentlich verstärkt*.

Die Fortsetzung unserer Versuche zur Klärung der hier weiterhin auftretenden Fragen führte teils zu ergänzenden Feststellungen, teils aber auch zu neuen Problemen. Die Arbeit zerfällt daher in 2 Teile: I. Über den Einfluß der Fütterungsart auf die Insulin-Schockempfindlichkeit normaler und hypophysektomierter Ratten; II. Über die Wirkung einer ungenügenden oder einseitigen Ernährung auf die Drüsen mit innerer Sekretion.

I. Der Einfluß der Fütterungsart auf die Insulin-Schockempfindlichkeit.

Nachdem es sich gezeigt hatte, daß die Insulin-Schockempfindlichkeit hypophysenloser Ratten sehr viel geringer ist, wenn sie bis in den Insulinversuch hinein reichlich Futter, insbesondere Glucose, erhielten, als wenn man sie in den letzten 18—20 Stunden vor der Insulininjektion hungern ließ, sollte zunächst geprüft werden, ob die reichliche Zufuhr von Glucose für dies Verhalten erforderlich ist, oder ob es etwa genügt, daß man, ohne Vorschaltung einer Hungerperiode, bis zuletzt mit gewöhnlichem Mischfutter, also ohne erhöhte Glucosegaben, ernährt (Versuchsreihe 1). Da nüchterne Ratten nach Hypophysektomie schon auf kleine Insulindosen aufs stärkste reagieren, wählten wir für diese Versuche die Injektionsgabe von 0,2 Einheit (= etwa 1 E/kg) intraperitoneal. In der Tat zeigten derartige Tiere, entsprechend den Befunden von Kater (2), schon 20 bis 60 Minuten nach der Injektion schwersten hypoglykämischen Schock, während die bis in den Insulinversuch hinein gefütterten, ebenfalls hypophysenlosen Vergleichstiere bei gleicher Dosis keinerlei Erscheinungen aufwiesen. Wenn man die Tiere zuerst reichlich mit Glucose (als Getränk in 20%iger Lösung) gefüttert hatte und dann 20 Stunden hungern ließ, zeigten sie sich genau so hoch empfindlich gegen Insulin, als wenn sie ohne Zuckerzugabe mit gewöhnlichem Futter ernährt waren (Tabelle 2).

Es wäre natürlich wünschenswert, zu wissen, bei welcher Insulingabe die Schutzwirkung der bis in den Insulinversuch sich erstreckenden Fütterung aufhört, doch fehlen uns bislang die zur Beantwortung dieser Frage erforderlichen Versuche.

Bei der Besprechung unserer früheren Ergebnisse [Riesser (1)] hatten wir die Hypothese aufgestellt, daß gerade die hohe Zuckerzufuhr in jenen Versuchen die Ursache für den Schutz hypophysenloser Tiere gegen Insulin sei. Es sollte dadurch der Ausfall der Glykogenese aus Eiweiß und

* Die Bezeichnung „Insulin-Schockempfindlichkeit" wird von uns absichtlich an Stelle der üblichen „Insulinempfindlichkeit" gewählt, weil die Reaktion des Kohlenhydratstoffwechsels auf Insulin keineswegs mit der Schockwirkung parallel geht, wenn sie auch mit ihr zusammenhängt. Die unterschiedslose Verwendung des Wortes Insulin-Empfindlichkeit für beide Arten von Reaktionen hat immer wieder zu Verwechslungen und Mißverständnissen geführt.

Fett, der eine Folge der Hypophysektomie ist, ausgeglichen und ein genügender Zuckerspiegel des Blutes gewährleistet werden.

Wenn diese Annahme zutrifft, dann sollte man annehmen, daß auch die nunmehr festgestellte Schutzwirkung gewöhnlichen, bis in den Insulinversuch hin verabfolgten Mischfutters durch seinen Gehalt an Kohlenhydrat bedingt ist und daß ein Futter, das nur Eiweiß und Fett, aber kein Kohlenhydrat enthält, keinen Schutz auszuüben vermag. Eine solche Fütterung müßte also, selbst wenn man sie bis zur Insulinprobe durchführte, kaum anders wirken als wenn man die Tiere hungern läßt.

Über den Einfluß der Ernährungsart auf die Insulin-Schockempfindlichkeit normaler Tiere ist schon manches gearbeitet worden. Übereinstimmend berichten Abderhalden und Wertheimer (3) für Ratten, Grevenstuk, de Jongh und Laqueur (4) für Kaninchen, und Himsworth (5) für Kaninchen und Hunde, daß Fütterung mit Eiweiß und Fett allein die Insulin-Schockempfindlichkeit nicht etwa erhöht, sondern vermindert, und daß alleinige Zufuhr von Kohlenhydrat sie, merkwürdigerweise, erhöht. Das wäre also das gerade Gegenteil von dem, was wir bei hypophysektomierten Tieren erwarteten. Einen Versuch zur Deutung einiger dieser Befunde haben wir schon in unserer vorhergehenden Veröffentlichung gemacht. Daß alle die genannten Autoren jeder Insulinprobe eine Nüchternperiode vorausschickten, sei hier nur erwähnt.

In der nunmehr zu betrachtenden zweiten Versuchsreihe (Tabelle 3) wurde zunächst das Verhalten normaler, also nicht operierter Ratten geprüft.

Es wurden drei Gruppen von je 4 Tieren angesetzt. Die eine erhielt das aus 90 g Casein, 115 g Öl und 255 g Stärke zusammengesetzte Futter I, die zweite eine Mischung aus 260 g Casein und 158 g Öl als Futter II, und die dritte reine Stärke, Futter III. Überdies wurde eine Salzmischung aus 1 Teil NaCl auf 1,5 Teile $CaCO_3$ zugefügt. Bei der Zusammenstellung des Futters ahmten wir die Futtermischungen nach, die Abderhalden und Wertheimer (3) angeben.

Nach verschieden langer Verfütterung (4—9 Tage) wurde jeweils aus jeder Gruppe ein Tier mit der gleichen Dosis Insulin, berechnet auf Körpergewicht, intraperitoneal gespritzt. Nach Ablauf von 2 Stunden, während derer das Futter nicht entzogen wurde, tötete man die Tiere durch Enthaupten und bestimmte im Carotisblut den Zuckergehalt nach Hagedorn-Jensen. Während des Versuchs wurde genau auf das etwaige Auftreten von Schockerscheinungen geachtet.

Als es sich herausstellte, daß bei der Fütterung bis in den Versuch hinein keine Unterschiede zwischen den verschiedenen Fütterungsgruppen erkennbar waren, wurden weitere Versuche so angestellt, daß die Tiere 18—20 Stunden vor dem Insulinversuch hungerten.

In der Tabelle 3 erkennt man die jeweils gleichzeitig geprüften Tiere an den beigegebenen Daten. Die Insulindosen steigen von einigen wenigen Einheiten auf 50 Einheiten, was etwa 300 Einheiten pro kg entspricht. Innerhalb der zweistündigen Beobachtungszeit wies keines der Tiere der Gruppen I und II ernstere Erscheinungen von Insulinschock auf. Tier 7a, das nach 20stündigem Hunger geprüft wurde, hatte vorher schon sehr

Tabelle 3. Versuchsreihe 2, normale Ratten.

Nr.	Gewicht in g vor	Gewicht in g nach	Abnahme %	Futterart	Dauer der Fütterung Tage	Tagesmenge g	Insulin Einh.	Verhalten	Blutzucker mg%	Nebenniere mg
1	150	140	7	I	4	9.5	5,4	normal	35	35
2	184	178	3	I	5	10	10	„	53,5	61
3	156	166	0	I	5	12	9	„	44	45
4	173	183	0	I	8	13	20	„	46,5	64
1a*	165	168	0	I	4	17	20	etwas matt	39,0	—
2a	164	160	0	I	6	9	30	normal	36,5	—
3a	164	160	0	I	7	15	40	matt	41,0	55
4a	162	158	0	I	9	12	50	normal	32,0	60
7	186	185	0	II	4	8,5	7,2	normal	35,0	87
8	168	183	0	II	5	10,0	10	„	30,0	55
5	150	120	20	II	8	2,3	14	„	46,5	25
6	174	170	0	II	8	6,4	20	„	46,5	49
5a	166	159	4	II	4	9,5	18,8	„	39,0	—
6a	166	163	0	II	6	7,8	30	matt	40,0	—
7a	158	126	20	II	7	4,4	32	„	41,0	46
8a	161	113	30	II	9	7,3	36	normal	41,0	50
9	144	135	7	III	4	15?	5,4	normal	37,0	58
12	156	133	15	III	4	0	5,4	„	36,0	52
10	174	150	14	III	5	15?	9	matt	34,0	45
10	169	166	0	III	8	16?	19	normal	45,0	45
12a	148	114	23	III	4	0	13,6	sehr matt	39,0	—
11a	149	122	19	III	9	0	40	Koma	37,0	47
10a	154	110	29	III	14	?	36,4	„	—	—

* Die mit a bezeichneten Tiere hungerten vor der Insulinprobe 22 Stunden.

wenig gefressen und kam in ziemlich heruntergekommenem Zustand zum Versuch, doch ließ sich selbst hier nur eine gewisse Mattigkeit als erstes Schocksymptom feststellen. Die Blutzuckerwerte sind überall gleich niedrig und erreichen die Grenze der Restreduktion, wobei innerhalb der geprüften Dosierungen die Höhe der Insulingabe ohne Einfluß ist. Die überaus große Insulinresistenz normaler Tiere kommt auch bei diesen Fütterungsarten voll zur Geltung. Dagegen erkennt man in der Mehrzahl der Versuche an den allein mit Stärke gefütterten Tieren der Gruppe III eine mehr oder weniger starke Wirkung der Insulinbehandlung, obwohl die Blutzuckerwerte nicht niedriger liegen als bei den Versuchen der Gruppen I und II. Die Mengenangaben über die aufgenommene Stärke sind aber irreführend. Sie stellen die Gewichtsdifferenz vor aus dem vorgelegten und zurückgefundenen Futter, doch konnte man bald erkennen, daß die Tiere einen großen Teil des Futters aus dem Trog herausgeworfen hatten. Es ist daher nicht ohne weiteres zu entscheiden, ob die stärkere Wirkung des Insulins durch die Kohlenhydratfütterung oder nicht vielmehr durch den Hungerzustand bedingt war.

Diese Versuchsreihe ließ jedenfalls keine Erhöhung der Insulin-Schockempfindlichkeit bei den kohlenhydratfrei ernährten Tieren erkennen, aber auch keine Verminderung, wie sie Abderhalden und Wertheimer (3) beobachteten. Allenfalls bestätigen sie die höhere Insulinempfindlichkeit bei reiner Kohlenhydraternährung, mit der obigen Einschränkung.

Die in dieser Versuchsreihe kontrollierten Nebennierengewichte zeigen bei leicht erhöhtem Mittelgewicht erhebliche Schwankungen. Dem extrem hohen Wert bei Tier 7 steht ein ebenso ungewöhnlich niedriger bei Tier 5 gegenüber, das allerdings an Körpergewicht um 20% abgenommen hatte. Bei gleich großer oder sogar größerer Gewichtsabnahme der Tiere 7a und 8a ist aber keine Veränderung des Nebennierengewichts gegenüber der Norm zu sehen. Hinweise irgendwelcher Art sind aus diesen Ziffern nicht zu entnehmen.

Nachdem die Fütterung normaler Ratten mit den verschiedenen Futterarten keine wesentlichen Unterschiede der Insulin-Schockempfindlichkeit aufgewiesen hatte, wurden in der Versuchsreihe 3 hypophysektomierte Ratten in der gleichen Anordnung untersucht.

Nur wurde in Gruppe III statt Stärke 20%ige Glucoselösung verabfolgt, deren Aufnahme sich leicht genau messen ließ. Wieder wurden alle Tiere bis in den Insulinversuch hinein gefüttert. Die Körpergewichte wurden von Tag zu Tag bestimmt. Die Mittelzahlen der prozentigen Gewichtsabnahme sind in der Tabelle 4 mit angegeben. Der Erfolg der Hypophysektomie wurde, wie stets, durch postmortale genaue Inspektion unter der Lupe kontrolliert.

Am 4. Tage nach der Operation wurden die ersten 3 Tiere, eines aus jeder Gruppe, geprüft, am 5. Tage weitere 3, wieder 3 am 8. Tage und die letzten am 9. Tage, gleichzeitig mit einem inzwischen voll erholten Tier aus dem zweiten Versuch. Bei einem mittleren Tiergewicht von 170 g lagen die angewandten Insulindosen zwischen 12 und 6 Einheiten/kg.

In der Tabelle 4 sind die jeweils erreichten Stadien der Insulinwirkung nach folgendem Schema bezeichnet:

1. Stadium: Erste erkennbare Wirkung. Das Tier ist „gedrückt" und schleppt meist auch die Vorderpfoten etwas nach.
2. Stadium: Das Tier ist matt, die Koordination der Beinbewegungen ist merklich gestört, doch läuft es noch spontan.
3. Stadium: Das Tier ist sehr matt. Es läuft nicht mehr spontan, wohl aber auf Reiz, wenn auch unsicher. Im Kletterversuch am Käfig ist es träge und ungeschickt.
4. Stadium: Beginnendes Koma. Das Tier duldet Zwangslagen, läuft auch auf Reiz nicht mehr und kann nicht mehr klettern.
5. Stadium: Tiefes Koma, Krämpfe.

Die Betrachtung der Tabelle IV lehrt, daß die kohlenhydratfrei, allein mit Eiweiß und Fett gefütterten Tiere in allen 4 Versuchsgruppen am wenigsten durch Insulin leiden und sämtlich am Leben bleiben im Gegensatz zu den übrigen Tieren. Nur in einem Versuch der vierten Gruppe, der in der Tabelle nicht angeführt ist und in dem ein mit Futter II vorbehandeltes Tier vorher 20 Stunden gehungert hatte, finden wir die in solchem Fall zu erwartende schnelle und starke Wirkung des Insulins (Koma in 120 Minuten). Die allein mit Glucose gefütterten Ratten sterben in 3 von 4 Versuchen ungefähr ebenso schnell oder wenig später im Koma,

Tabelle 4. Versuchsreihe 3. Hypophysenlose Ratten.

Gruppe	Tier Nr.	Gewichtsabnahme %	Insulin Einh.	Tage nach Operat.	Zeit nach Injektion in Min.	Futter I Stadium	Futter II Stadium	Futter III Stadium
						Tier Nr. 1	Tier Nr. 5	Tier Nr. 9
1	1	6	2	4	30	1	1	munter
					60	1	1	„
	5	9	2	4	90	1	1	„
					$1^1/_2$	Stunden nicht beobachtet!		
	9	8	2	4	180	3	2	tot gefund.
					190	4	2	
					220	5	2	
					240	tot	1	
							bleibt am Leben	
						Tier Nr. 2	Tier Nr. 6	Tier Nr. 10
2	2	0	2	5	30	munter	munter	munter
					60	„	„	„
	6	0	2	5	85	1	1	„
					110	2	2	1
	10	0	2	5	125	3	2	1
					135	4	2	1
					160	5	2	1
					205	5	2	2
					210	tot	2	4
					215		2	5
					230		bleibt leben	tot
						Tier Nr. 3	Tier Nr. 7	Tier Nr. 11
3	3	13	1,5	8	15	munter	munter	munter
					50	1	1	„
	7	19	1,5	8	80	1	1	„
					105	2	2	„
	11	9,5	1,5	8	115	3	2	1
					125	4	2	2
					130	4	2	3
					155	5	2	5
					170	5	2	5
					210	tot	2	tot
							bleibt leben	
						Tier Nr. 4	Tier Nr. 8	Tier Nr. 12
4	4	18	1,0	9	25	munter	munter	munter
					45	1	„	1
	8	0	1,0	9	60	2	1	2
					70	3	1	3
	12	14	1,0	9	100	3	2	3
					115	4	2	3
					140	5	3	4
					190	5	3	4
					220	5	3	4
					280	tot	3	4
					325		3	tot
							bleibt leben	

wie die mit allen drei Nahrungsstoffen gefütterten. Sie zeigen jedoch zum Teil insofern einen Unterschied, als sie längere Zeit wenig angegriffen erscheinen; dann aber verschlechtert sich der Zustand ganz plötzlich und es kommt in kurzer Zeit zu Koma und Tod. Es sieht also so aus, als ob in diesen Versuchen die reine Glucoseernährung eine Zeitlang schützend wirkte und daß dieser Schutz dann plötzlich versagte.

Die nur in der Gruppe 3 untersuchten Nebennierengewichte sind durchweg klein, wie es bei hypophysenlosen Tieren zu erwarten ist.

Die nun folgende vierte Versuchsreihe ist wieder an normalen Ratten angestellt mit dem Ziel, den etwaigen Einfluß der verschiedenen Futterarten nochmals zu prüfen unter Verwendung von Glucoselösung statt der Stärke, deren Verfütterung sich in Versuchsreihe 2 so wenig bewährt hatte.

Wieder erhielten 3 Gruppen von je 4 Tieren (Männchen) die drei verschiedenen Futterarten bis in den Insulinversuch hinein. Eine 4. Gruppe wurde nicht mit Insulin behandelt und diente als Kontrolle für die Nebennierengewichte.

Tabelle 5. Versuchsreihe 4. Normale Ratten.

Gruppe	Tier Nr.	Futterart	Dauer der Fütterung Tage	Gewicht in g vor	Gewicht in g nach	Abnahme %	Insulin	Schock	Nebenniere mg
1	1	I	8	169	171	0	4 Einh.	0	55
	5	II	8	173	183	0	4 „	0	45
	9	III	8	175	150	14	4 „	0	25
2	2	I	9	169	171	0	8 „	0	45
	6	II	9	196	200	0	10 „	0	42,5
	10	III	9	180	160	11	8,7 „	0	29
3	3	I	10	184	160	13	20 „	+	41
	7	II	10	177	208	0	26 „	+	65
	11	III	10	181	157	13	20 „	0	50
4	4	I	11	170	158	7	0 „		49
	8	II	11	193	210	0	0 „	—	54
	12	III	11	188	159	16	0 „	—	26

Verlauf von Gruppe 3.

Zeit nach Injektion Min.	Tier Nr. 3 (Futter I)	Tier Nr. 7 (Futter II)	Tier Nr. 11 (Futter III)
15	munter	munter	munter
30	„	„	„
60	„	„	„
75	weniger munter	„	„
90	Stadium 1	matt	„
105	„ 1	Stadium 1	„
120	„ 1	„ 1	„
165	„ 1—2	„ 2	„
190	„ 2	„ 2—3	„
210	„ 2	„ 2—3	„
240	„ 2	„ 3	„
255	„ 2	„ 3—4	„
270	„ 2	„ 3—4	„

Tabelle 5 zeigt das Ergebnis dieser Versuche. Bis zur Dosierung von 50 Insulineinheiten pro kg ließen sich innerhalb $4^1/_2$ Stunden nach der Injektion keine Wirkungen erkennen. Erst bei 125 Einh./kg kam, wenn auch sehr spät, eine gewisse Wirkung zustande, aber nur bei den beiden Futtergruppen I und II, nicht bei dem allein mit Glucose gefütterten Tier. Aber auch die beiden erstgenannten Tiere wiesen nur milde Grade der Insulinwirkung auf und blieben am Leben. Aus dieser einen Versuchsgruppe kann man natürlich nichts schließen. Bemerkenswert jedoch sind die Zahlen für die Nebennierengewichte. Bei 3 von den 4 allein mit Glucose gefütterten Tieren wogen diese Drüsen 25, 29 und 26 mg und nur in der Gruppe 3 war das Gewicht mit 50 mg normal. Alle vier Glucosetiere hatten an Gewicht ziemlich gleichmäßig abgenommen bei einer Fütterungsdauer von nur 8—10 Tagen. Dagegen zeigt sich bei den mit Eiweiß und Fett allein ernährten eine nicht unbeträchtliche Zunahme des Körpergewichts.

Die Beobachtung, daß bei alleiniger Glucosefütterung normaler Ratten die Nebennieren so beträchtlich an Gewicht abnehmen, legte den Gedanken nahe, daß bei dieser Art von Fütterung als Folge relativer Unterernährung eine Schädigung innersekretorischer Organe eintrete. In der Tat nahmen die Tiere pro Tag 50—60 ccm der 20%igen Glucoselösung auf, also 10—12 g Glucose. Das bedeutet eine Kalorienaufnahme von nur etwa 40—50 Kal. pro Tag, während man normalerweise für Ratten dieser Größe einen erheblich höheren Verbrauch anzunehmen hat (etwa 100 Kal.).

Die Notwendigkeit, diese Frage zunächst zu klären, also festzustellen wie Unterernährung an sich auf die Drüsen mit innerer Sekretion (und damit auch auf die Insulin-Schockempfindlichkeit) wirkt, führte zum II. Teil unserer Arbeit. Bevor wir uns mit ihm beschäftigen, soll aber das Ergebnis des ersten Teiles kurz erörtert werden.

Bestätigt wird, daß bis zum Insulinversuch durchgefütterte hypophysenlose Ratten weit weniger insulin-schockempfindlich sind als solche, die, wie immer sie vorher gefüttert waren, vor der Insulinprobe 18—20 Stunden nüchtern blieben. Um diese Wirkung zu erzielen, ist es nicht nötig, besonders viel Glucose zu geben. Die Frage, ob die Schutzwirkung des gewöhnlichen Mischfutters überhaupt an den Kohlenhydratgehalt gebunden ist, kann verneint werden. Wir haben vielmehr feststellen können, daß die mit einem kohlenhydratfreien Futtergemisch aus Casein und Öl ernährten hypophysenlosen Ratten besonders widerstandsfähig gegen Insulin waren. Reine Zuckerfütterung verzögerte zwar in den ersten Stadien die Insulinwirkung, konnte aber den tötlichen Ausgang nicht hintenanhalten. In analogen Versuchen an nicht operierten, also normalen Ratten bestätigte sich zunächst, daß sie ohne oder mit vorangehender Hungerperiode hochgradig unempfindlich sind gegen die Schockwirkung des Insulins. Obwohl der Blutzucker auch bei den kleineren angewandten Dosen bis an die Grenze der Restreduktion sank, traten dennoch selbst

bei Dosen bis zu 300 Einheiten pro kg Körpergewicht keinerlei Erscheinungen innerhalb von 2 Stunden nach der Injektion auf. Beobachtete man noch länger und zwar bis über 4 Stunden, dann ließ sich in einem Versuch mit 125 Einheiten pro kg eine mäßige Wirkung feststellen, die allerdings bei dem mit Glucose allein gefütterten Tier ausblieb. Während wir also bei den hypophysenlosen Tieren unter kohlenhydratfreier Ernährung eine Minderung der Insulin-Schockempfindlichkeit feststellen, war dies bei normalen Ratten in unseren Versuchen nicht zu beobachten. Daß eine solche Wirkung aber auch hier eintreten kann, beweisen die Ergebnisse von Abderhalden und Wertheimer (3).

Bei dem Versuch, die beobachteten Erscheinungen zu erklären, gehen wir von der wohlbegründeten Vorstellung aus, daß beim hypophysenlosen Tier infolge des Fehlens des adrenotropen Hormons die Nebennierenfunktion größtenteils wegfällt und damit der Gegenspieler gegen das Insulin ausgeschaltet und die erhöhte Insulin-Schockempfindlichkeit herbeigeführt wird. Wenn nun, wie wir sahen, kohlenhydratfreie Ernährung die Insulinwirkung herabsetzt, so könnte das darauf beruhen, daß Zuckermangel, wie bekannt, als Reiz auf die Nebennieren und insbesondere auf die Adrenalinproduktion wirkt. So könnte der durch Wegfall des adrenotropen Hormons bei hypophysenlosen Tieren entstehende Ausfall ausgeglichen werden und eine Steigerung des Widerstandes gegen die Insulinwirkung zustande kommen. Andererseits wirkt künstliche Hyperglykämie, wie bei Kohlenhydratüberfütterung, hemmend auf die Tätigkeit der Nebenniere, müßte also die Insulinwirkung verstärken, wie es ja tatsächlich auch bei normalen Tieren von verschiedenen Autoren gefunden wurde. Bei hypophysenlosen tritt dasselbe vielleicht nur deswegen nicht in Erscheinung, weil ihre Insulinempfindlichkeit ohnehin schon maximal ist. Berücksichtigt man endlich, daß andererseits reichliche Glucosezufuhr an sich der Insulinhypoglykämie entgegen wirkt, dann werden auch die unregelmäßigen und oft einander widersprechenden Ergebnisse der Versuche der Autoren verständlich. Daß bei normalen Tieren wegen des voll erhaltenen regulierenden Einflusses der Hypophyse die Wirkung von Zuckermangel und Zuckerüberschuß in der Kost sich nicht so schroff geltend machen dürfte als bei hypophysenlosen, kann bei Deutungsversuchen auch nicht außer acht gelassen werden. Daß aber bei allen derartigen Versuchen, gerade auch an normalen Tieren, der Ernährungszustand für die Leistungsfähigkeit der innersekretorischen Drüsen und damit auch für die Insulin-Schockempfindlichkeit entscheidend ist, dafür werden wir im zweiten Teil unserer Arbeit Hinweise liefern.

II. Die Wirkung ungenügender oder einseitiger Ernährung auf die innersekretorischen Drüsen.

Es war in der Versuchsreihe 4 aufgefallen, daß normale, ausschließlich mit Glucose gefütterte Ratten ein mittleres Nebennierengewicht von

27 mg aufwiesen, was, bei Zugrundelegen eines normalen Mittelwertes von 45 mg für Ratten dieses Gewichts, einer Abnahme um 41 % entspricht. Das Körpergewicht dieser Tiere war in den 8—10 Tagen der Zuckerfütterung um nur 13 % gesunken.

In der Versuchsreihe 5 wurden daher zunächst 6 Ratten 19 Tage lang allein mit 20%iger Glucoselösung gefüttert (Gruppe I). Danach wurden 3 der Tiere getötet und die 3 anderen wieder auf volle Fütterung gesetzt (Gruppe II), bis sie im Laufe von 8 Tagen ihr Anfangsgewicht wieder erreicht oder sogar ein wenig überschritten hatten. Bei allen Tieren wurden Hypophyse, Nebennieren, Samenblasen und bei einem Teil auch die Thymusdrüse gewogen. Tabelle 6 gibt die Ergebnisse wieder. Der prozentischen Berechnung der Gewichtsabnahmen wurden die folgenden Normalwerte zugrunde gelegt: Hypophyse 12 mg, Nebennieren 45 mg, Samenblasen 500 mg und Thymus 360 mg. Die Tiere nahmen von 80 ccm angebotener Glucoselösung 60 ccm pro Tag auf.

Tabelle 6. Versuchsreihe 5.

Gruppe	Tier Nr.	Gewicht in g vor	Gewicht in g nach	Hypophyse mg	Nebenniere mg	Samenblase mg	Thymus mg
I	1	180	140	3,5	33	203	—
	2	175	126	3,5	31	55	—
	3	164	124	4,0	29	43	100
Nur Glucose				Abnahme in %.			
	1	22		70	27	60	—
	2	17		70	31	89	—
	3	12		67	35	91	67

Gruppe	Tier Nr.	Gewicht in g Anfang	Mitte	Ende	Hypophyse mg	Nebenniere mg	Samenblase mg	Thymus mg
II	4	170	128	180	13	44	347	156
Nach Glucose	5	182	134	200	13	45	600	192
Vollfütterung	6	162	123	181	12	55	410	260

Dieser Versuch lenkte unsere Aufmerksamkeit zum ersten Male auf die interessante Tatsache, daß nach der als Unterernährung zu betrachtenden ausschließlichen Zuckerfütterung und bei einer mittleren Körpergewichtsabnahme von 17 % schon nach 19 Tagen die Hypophyse um nicht weniger als 70 %, die Nebennieren um 31 %, die Thymus um 70 % und die Samenblasen sogar um 80 % an Gewicht verloren hatten. Nach Wiederauffütterung waren, mit Ausnahme der Thymus, die ihr Normalgewicht noch nicht voll wiedererlangt hatte, die Organe völlig auf ihr altes Gewicht zurückgebracht. Im histologischen Bilde wies die nach Ruyter fixierte und gefärbte Hypophyse einen starken Schwund des Zellplasmas auf, so daß die ebenfalls verdichteten Kerne mit ihrer starken Färbung das Bild beherrschten. In den Nebennieren ließ sich eine Verkleinerung des Rindenteils, besonders im fasciculären Gebiet, erkennen.

Während wir damit beschäftigt waren, den aus solchen Beobachtungen zu erschließenden Einfluß der Ernährung auf den Zustand der Hypophyse und der

von ihr abhängigen anderen innersekretorischen Drüsen zu untersuchen, kam uns eine Arbeit von Mulinos und Pomerantz (7) zu Gesicht, in der gezeigt wird, daß eine über mehrere Wochen durchgeführte ungenügende Ernährung mit gewöhnlichem Mischfutter ein Krankheitsbild bei Ratten hervorruft, das dem nach Hypophysektomie entstehenden weitgehend ähnlich ist. Als primären Sitz der Schädigung betrachten sie die Hypophyse, und sie sprechen von einer „Pseudo-Hypophysektomie" durch Unterernährung. Diese Arbeit findet eine Ergänzung in einer soeben erschienenen Untersuchung von Stephans (8), der sich besonders mit den Veränderungen der Schilddrüse bei Unterernährung von Meerschweinchen befaßt. Er kommt zu dem Schluß, daß das Auftreten einer typischen Ruhe-Schilddrüse unter diesen Umständen auf einer primären Hemmung der Hypophysentätigkeit beruht.

In den Versuchsreihen 6 und 7 wurden je 6 Ratten angesetzt, weibliche und männliche. Die Tiere der Reihe 6 erhielten eine unzureichende Menge des im Institut gebräuchlichen Mischfutters, die Tiere der Reihe 7 wurden wieder ausschließlich mit 20%iger Glucoselösung gefüttert; in besonderem Gefäß erhielten sie außerdem eine Mischung aus 1 Teil NaCl und 1,5 Teilen $CaCO_3$ angeboten.

Die Futter- und Zuckermengen wählten wir so, daß eine langsame Gewichtsabnahme erfolgte. Blieb das Gewicht einmal einige Tage konstant, dann wurde die Futtermenge etwas vermindert so daß der Gewichtsabfall in langsamem Fortschreiten erhalten wurde. Zu verschiedenen Zeiten, zwischen dem 12. und dem 36. Tage, wurde je ein Tier aus jeder Reihe zur Wägung und mikroskopischen Untersuchung der Organe getötet.

Versuchsreihe 8, mit weiteren 4 Tieren unternommen, diente zur Ergänzung der Reihe 7 und unterschied sich nur dadurch, daß die Tiere keine Salzzulage zur reinen Glucosefütterung erhielten. Sie wurden teils nach 13 bzw. 15 Tagen, teils nach 49 Tagen untersucht.

Tabelle 7 bringt die Ergebnisse in absoluten und prozentischen Werten für alle 3 Versuchsreihen.

Die kurzdauernden Versuche, bei denen ein Teil der Organe noch nicht beeinflußt erschien, wurden bei der Berechnung der Mittelwerte besonders berücksichtigt und die unter Fortlassung dieser Ziffern errechneten Durchschnittsziffern sind in Klammern beigefügt.

Wie man sieht, besteht kein wesentlicher Unterschied zwischen den Ergebnissen der drei Versuchsreihen. In allen hat die Hypophyse zwischen 55 und 61% abgenommen, die Schilddrüse in fast genau dem gleichen Maße; als Norm für dieses Organ legten wir 30 mg zugrunde. Diese beiden Drüsen zeigen in den kurzdauernden Versuchen nahezu die gleiche Gewichtsminderung als in den langdauernden, und diese Abnahme ist von der Größe der Körpergewichtsabnahme bis zu einem gewissen Grade unabhängig. Deutlicher macht sich die Dauer der Versuche an der Gewichtsabnahme der anderen Drüsen geltend, vor allem bei Ovar und Nebennieren (Normalgewicht der Ovarien 50 mg). Auch die Thymusdrüse ist mit 80% Gewichtsabnahme in den langdauernden Versuchen der Reihe 8 besonders stark betroffen, doch ist in der gleichen Reihe bei Tier 3

Tabelle 7.

Nr.	Dauer	Gewicht in g		Ovar	Samenblase	Nebenniere	Thymus	Schilddrüse	Hypophyse
	Tage	vor	nach	mg	mg	mg	mg	mg	mg
				Versuchsreihe 6, Unterernährung.					
1	36	170	120	50	—	49	65	14	6,5
2	31	186	105	—	70	30	—	11	4,0
4	23	197	108	—	89	40	—	13	4,5
5	15	200	108	—	62	40	—	11	—
2	12	186	136	47	—	(75)		14	5,0
			Mittel:	48,5	70,0	46,8 (40)		12,6	5,0
				Versuchsreihe 7, nur Glucose und Salz.					
10	36	210	160	—	194	22	130	14	5,0
11	36	197	157	—	140	30	156	13	6,0
12	31	178	111	35	—	45	—	10	6,0
9	27	190	146	40	—	32	—	13	5,5
8	22	184	144	33	—	47	—	18	5,0
7	12	192	166	(56)	—	(56)	—	17	5,0
			Mittel:	41 (36)	167	39 (35)	143	14	5,4
				Versuchsreihe 8, nur Glucose ohne Salz.					
1	49	176	102	33	—	33	34	4	4,0
4	49	192	117	—	84	23	40	—	6,0
3	13	162	120	—	56	29	49	11,5	4,0
2	15	188	155	(75)	—	(57)	(252)	8	8,0
			Mittel:	(54)	70	33 (25)	94 (41)	7,8	5,5
				Prozentige Abnahmen.					
				Versuchsreihe 6. Unterernährung.					
1	36	30		0	—	0	68	53	46
3	31	43		—	86	33	—	63	67
4	23	45		—	82	11	—	57	62
5	15	46		—	87	11	—	63	—
2	12	27		0	—	(-44)	—	63	58
	Mittel:	38		0	85	2,8 (14)		58	58
				Versuchsreihe 7, nur Glucose und Salz.					
10	36	24		—	61	51	52	53	58
11	36	20		—	72	30	48	57	50
12	31	37		30	—	0	—	67	50
9	27	23		20	—	29	—	57	54
8	22	21		34	—	0	—	40	58
7	12	13		(0)	—	(-24)	—	43	58
	Mittel:	23		21 (28)	67	15 (22)	51	53	55
				Versuchsreihe 8, nur Glucose ohne Salz.					
1	49	42		34	—	50	88	86	67
4	49	39		—	83	50	87	—	50
3	13	25		—	89	35	84	62	67
2	15	20		(-50)	—	(-26)	(16)	73	33
	Mittel:	31,5			86	27 (45)	69 (87)	74	45 (61)

mit nur 13tägiger Unterernährung und 25%iger Gewichtsabnahme derselbe Grad des Thymusschwundes festzustellen. Man könnte in der starken Abnahme des Nebennierengewichts in Reihe 8 einen Einfluß der Salzfreiheit der Nahrung vermuten, doch hat sich diese Annahme in anderen, noch zu besprechenden Versuchen nicht bestätigt. Über die Ergebnisse der histologischen Untersuchung soll erst im Zusammenhang mit der nachfolgenden Versuchsreihe 9 gesprochen werden.

In dieser Reihe wurden 2 Gruppen von je 6 Ratten untersucht. In beiden wurde wieder als einziges Futter 20%ige Glucoselösung gegeben, in Gruppe A ohne, in Gruppe B mit Zusatz der Salzmischung zur Lösung. Auf Grund der bisherigen Erfahrungen wurde mit 80 ccm Glucoselösung begonnen. Als damit nach 8 Tagen bei 12—15% Gewichtsabnahme Stillstand eingetreten war, wurde zuerst auf 60 ccm und 2 Tage danach auf 50 ccm Glucoselösung vermindert. Nach Ablauf der dritten Woche und bei einem Körpergewichtsverlust von insgesamt 35% wurden schließlich nur noch 40 ccm Lösung verabfolgt. Als äußerste Grenze ließ sich so eine Gewichtsabnahme von 49% erreichen; ein Tier, das bis auf 50% gekommen war, ging am gleichen Tage ein.

In der Gruppe mit 1% Salzzusatz zur Glucoselösung trat zwischen dem 13. und 14. Tage bei allen 6 Tieren ein akuter Gewichtssturz ein, der eine Herabsetzung der Salzgabe auf 0,5% veranlaßte. In der Tat wurde dadurch der Gewichtssturz unmittelbar aufgehalten, und der weitere Verlauf war danach in dieser Gruppe der gleiche wie in der salzfrei gefütterten. Bis zu einer Gewichtsabnahme von über 45% blieben die Tiere sehr munter und zeigten keine auffallende Schwäche.

Tabelle 8 A zeigt die Ergebnisse. Die längere Dauer der Versuche und die durchschnittlich stärkere Abnahme des Körpergewichts kommt, im Vergleich mit den Versuchsreihen 6—8, auch in den Organgewichten zur Geltung. Nur die Hypophysen zeigen fast genau die gleiche Abnahme wie in den zum Teil viel kürzer dauernden vorigen Versuchen, nämlich 58% im Mittel. Die Abnahme der Schilddrüsen erreicht im Mittel 68%, die Thymus ist überhaupt nicht mehr zu erkennen. Bei Nebennieren und Ovarien finden sich annähernd die gleichen Abnahmen wie in den vorigen Reihen, nämlich 29 bzw. 31%, während die Samenblasen diesmal über 82% ihres Gewichts einbüßen.

3 Tiere dieser Versuchsreihe wurden, nachdem sie 38—48% ihres Körpergewichts verloren hatten, wieder auf gewöhnliches Mischfutter gesetzt. Tabelle 8 B weist die zugehörigen Ziffern auf. Das eine Tier hatte nach 9tägiger Vollfütterung immer noch ein um 29% gegen den Versuchsbeginn vermindertes Gewicht, während die beiden anderen, nach 18 Tagen, ebensoviel oder etwas mehr wogen als zu Anfang.

Entsprechend nun verhalten sich die Organgewichte. Nach der nur teilweisen Wiederauffütterung ist bei Tier 4 die Hypophyse noch immer um 50% untergewichtig, die Schilddrüse um 40%. Die Thymus hat sich überhaupt noch nicht wiedergebildet, soweit sich dies makroskopisch feststellen ließ, während das Ovar von normaler Größe ist. Bemerkenswert ist die große Nebenniere, die 46% schwerer ist als dem normalen Mittelwert

Tabelle 8 A. Versuchsreihe 9a. Normale Ratten, nur Glucose.

Nr.	Dauer der Fütterung Tage	Gewicht in g vor	Gewicht in g nach	Ovar mg	Samenblase mg	Nebenniere mg	Thymus mg	Schilddrüse mg	Hypophyse mg
1	27	204	110	—	103	28	0	7	5
2	35	198	108	—	96	33	0	13	4,5
3	34	197	100	—	88	36	0	7	4,0
5	30	186	106	31	—	34	0	10	5
8	27	192	118	—	112	26	0	6,5	4
9	35	200	103	—	57	26	0	14	4,5
10	32	195	106	34	—	42	19	11	7
11	30	178	102	39	—	31	0	8	6
		Mittel:		25	94	32	2,3	9,6	5,0
				Abnahme in %.					
1	27	46		—	79	38	100	77	58
2	35	45,5		—	81	27	100	57	62
3	34	49		—	82	20	100	77	67
5	30	43		38	—	25	100	67	58
8	27	38,5		—	78	42	100	78	67
9	35	48,5		—	88	42	100	53	62
10	32	45		32	—	7	96	63	42
11	30	42		22	—	31	100	72	50
	Mittel:	45		31	82	29	100	68	58

Tabelle 8 B. Versuchsreihe 9b. Nur Glucose, dann Wiederauffütterung.

Nr.	Dauer der Fütterung in Tagen Glucose	Vollfütterung	Gewicht in g vor	Mitte	nach	Ovar mg	Samenblase mg	Nebenniere mg	Thymus mg	Schilddrüse mg	Hypophyse mg
4	42	9	195	100	137	46	—	73	0	18	6
6	33	18	182	112	190	67	—	50	260	23	10
12	33	18	170	97	198	82	—	65	252	27	12
						Veränderung in %.					
4	42	9	− 43	− 29	− 8	—		+ 46	−100	− 40	− 50
6	33	18	− 38	0	+ 34	—		0	− 13	− 23	− 17
12	33	18	− 43	+ 16	+ 64	—		+ 30	− 16	− 10	− 0
		Mittel:	− 43	− 4	+ 30	—		+ 25	− 43	− 24	− 22

entspricht. Bei den beiden anderen Tieren haben die Hypophysen ihr normales Gewicht ganz oder nahezu erreicht. Ebenso ist es mit der Schilddrüse, und auch die Thymus hat sich fast in voller Größe wieder entwickelt. Die Nebennieren sind normal bis übernormal groß, und auch bei den Ovarien finden sich über die Norm erhöhte Werte. Daß auch die Samenblasen ganz regenerieren, zeigen uns die betreffenden Versuche der Reihe 5, Tabelle 6. Interessant ist es, daß bei Tier 7 in Tabelle 8 A der relativ am wenigsten verkleinerten Hypophyse eine ebenfalls weniger

verkleinerte Schilddrüse und eine fast normale Nebenniere entsprechen; sogar vom Thymus, die sonst überall in dieser Versuchsreihe geschwunden ist, finden sich in diesem Fall noch wägbare Reste. Noch deutlicher wird der Zusammenhang zwischen Zustand der Hypophyse und dem der anderen Drüsen, wenn wir nunmehr zur Betrachtung einiger mikroskopischer Präparate übergehen.

Die Hypophysen sind nach Ruyter fixiert und gefärbt. Die Schilddrüsen sind in Formalin fixiert und mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt. Dieselbe Färbung wurde auch bei den Nebennieren und Ovarien gewählt, deren Fixation in Bouinscher Lösung erfolgte *.

Als typische Beispiele wählen wir die Organe der Tiere 12, 3 und 4 aus der letzten Versuchsreihe (IX). Tier 12 war nach weitgehender Unterernährung durch Wiederauffütterung auf volles Ausgangsgewicht gebracht worden, auch hinsichtlich der Organgewichte. Tier 3 zeigte bei einer Gewichtsabnahme von 49% sehr weitgehende Verkleinerung von Hypophyse, Schilddrüse und Nebennieren bei totalem Thymusschwund. Tier 4 endlich war nach der Unterernährung nur unvollständig wieder aufgefüttert (s. Tabelle 8B) und ließ Zwischenstadien erwarten. Präparate einiger anderer Tiere wurden zum Vergleich mit herangezogen.

Die Hypophyse von Tier 3, die nur 4 mg wog, zeigte ein ähnliches Bild, wie es schon beim Versuch 5° beschrieben wurde: starke Involution des Cytoplasmas, verkleinerte, stark gefärbte Kerne und dazu eine, auch in anderen ähnlichen Präparaten auffallende Hyperämie. Es ist bemerkenswert, daß die Hypophyse des Tieres 10, die noch 7 mg wog, auch histologisch nicht so weitgehend verändert ist wie die des Tieres 3. Bei Tier 12, dessen Hypophyse das Normalmaß von 12 mg wieder erreicht hatte, entspricht das Bild der großen, cytoplasmareichen Zellen mit schwach gefärbtem Plasma und großen blassen Kernen ganz der Norm. Der Mittellappen sieht hier im Verhältnis zum Vorderlappen ungewöhnlich groß aus. Verstreute Herde von Leukocyten, wie man sie in gesunden Hypophysen nicht findet, deuten auf abgelaufene regressive Vorgänge. Bei Tier 4, dessen Hypophyse trotz begonnener Wiederauffütterung noch recht klein war (6 mg), haben wir denn auch ein Bild, das zwischen der vollen Involution und der vollendeten Restitution steht. Dabei hat man den Eindruck, als ob der Mittellappen und die Peripherie des Vorderlappens bei der Wiederherstellung vorangehen.

Vergleicht man ebenso die Schilddrüsenbilder, so bietet die Drüse von Tier 3 das typische Bild, das man als Inaktivitätsbild bezeichnet, zeigt also bei etwas geschrumpftem zentralem Teil in der Peripherie weitlumige Drüsenschläuche mit flachem Epithel und reichlichem Kolloid, so wie man

* Für die sorgfältige Herstellung der Präparate bin ich Frl. M. Smit zu Dank verpflichtet. Bei der Beurteilung der histologischen Bilder kamen mir Erfahrung und Rat des Herrn Kollegen Dr. J. Freud in sehr dankenswerter Weise zugute.

es auch nach Hypophysektomie stets zu sehen bekommt. Bei Tier 12 dagegen hat auch die Schilddrüse sich voll erholt, weist kubische Zellen auf mit runden Kernen und geringem Kolloidgehalt der Drüsenräume, wie es als Aktivitätsbild gilt. Tier 4 zeigt auch hinsichtlich der Schilddrüse den Zustand einer mittleren Lage.

Was die Nebennieren anbetrifft, so fällt bei Tier 3 etwas auf, was man nach Hypophysektomie nie zu sehen bekommt, nämlich eine starke Veränderung des Marks. Es ist geschrumpft, die Anordnung der Drüsenschläuche ist verlorengegangen, die Zellen sind mikro-atrophisch. In der Rinde ist, wie nach Hypophysektomie, die zona fascicularis verschmälert, wie wir es auch sonst bei allen unterernährten Ratten beobachten. Aber auch die beiden anderen Schichten, die glomerularis und die reticularis, führen merklich kleinere Zellen als normale Drüsen und als die entsprechenden Schichten bei dem voll wieder aufgefütterten Tier 12. Bei Tier 4 dagegen mit seiner besonders großen Nebenniere sind alle Schichten sowohl der Rinde wie des Marks normal.

Die merkwürdige und sehr starke Veränderung des Nebennierenmarks bei Tier 3 steht vielleicht im Zusammenhang mit der alleinigen Zuckerfütterung. Man könnte sich vorstellen, daß diese Überschwemmung mit Zucker eine Inaktivitäts-Atrophie des Marks veranlaßt. Es ist daher auch interessant, daß die Nebenniere von Tier 1 aus Versuchsreihe 6, bei dem nicht Zucker, sondern Mischfutter in ungenügender Menge gegeben worden war, zwar die Veränderungen der Rinde, nicht aber die des Marks aufweist.

Sehr aufschlußreich sind die histologischen Bilder der Ovarien. Betrachtet man die Präparate von Tier 5 und 11 der Versuchsreihe 9, bei denen die Hypophysen je 5 und 6 mg wiegen, so ergeben die Ovarien, vom Gewicht 31 bzw. 39 mg, Bilder, wie man sie 5—6 Tage nach Hypophysektomie zu sehen bekommt: Alle Graafschen Follikel sind geschwunden, die noch vorhandenen corpora lutea sind alt oder im Schwinden begriffen und die Zellen des Interstitiums sind atrophisch. Bei Tier 10, dessen Hypophyse 7 mg, dessen Schilddrüse 11 mg wog und bei dem sogar noch ein Stückchen Thymus zu finden war, ist das Bild etwa so wie 2 bis 3 Tage nach Hypophysektomie: Man sieht noch jüngere corpora lutea, und der ganze Prozeß ist weniger weit fortgeschritten als bei den beiden vorgenannten Tieren. Bei Tier 2 aus Reihe 8, das in 15 Tagen 20% an Gewicht abgenommen hatte und bei dem die Hypophyse immerhin noch 8 mg, die Thymus sogar noch 252 mg wogen und wo sowohl die Nebennieren wie die Ovarien übergewichtig sind, ist das mikroskopische Bild des Ovars ganz normal. Tier 12 der Reihe 9, auf der Höhe der Restitution nach Wiederauffütterung, bietet das Bild eines Ovars, wie man es nach Behandlung mit gonadotropem Hormon findet: Die Follikel fehlen fast ganz, dagegen sind die reifen und älteren corpora lutea zahlreich. Es sieht so aus,

als ob dieser Zustand sich aus einer hochgradigen Atrophie heraus entwickelt hat— wie es ja auch in der Tat der Fall war —, so daß die gesamte Struktur neu gebildet werden mußte. Bei Tier 4 der Reihe 9, bei dem, wie wir sahen, die Wiederherstellung unvollständig geblieben war, sieht man, im Vergleich zu den Bildern bei voller Unterernährungs-Atrophie, schon größere Follikel auftreten. Junge corpora lutea sind zwar noch nicht wieder vorhanden, aber die alten finden sich in sehr gutem Zustande und sehen gleichsam aufgefrischt aus. Das Interstitium ist aber noch zurückgeblieben.

Die Gesamtheit unserer Befunde kann also nur die These von der Pseudo-Hypophysektomie, als Folge mangelhafter Ernährung, bekräftigen. Nur geht das Bild der regressiven Veränderungen nie so weit wie nach Wegnahme der ganzen Hypophyse, was ja auch ohne weiteres verständlich ist. Die hochgradige Muskelschwäche hypophysektomierter Tiere haben wir bei unseren Hungertieren nie gesehen; sie blieben vielmehr bis zum Schluß trotz stärkster Abnahme auffallend mobil.

Alles weist darauf hin, daß Hypophyse und Schilddrüsen die ersten Organe sind, die schon bei kurzdauernder Unterernährung hochgradig an Gewicht verlieren, während gleichzeitig die anderen Organe noch annähernd normale Gewichte haben können. Erst im weiteren Fortschreiten der Unterernährung und wahrscheinlich als Folge der primären Hypophysenschädigung geht auch das Gewicht der anderen Drüsen zurück, wobei Thymus und Samenblasen am stärksten leiden, während, was das Gewicht betrifft, Ovarien und Nebennieren relativ weit weniger abnehmen. In späteren Versuchen sollte man auch die Hoden untersuchen. Vor allem muß nunmehr geprüft werden, welche Beziehungen zwischen dem Grad der Unterernährung bzw. der Größe der Gewichtsabnahme einerseits, der Störung der Hypophysen andererseits bestehen und welche Rolle die Dauer der Unterernährung spielt.

Nachdem es sich gezeigt hat, daß schon bei Körpergewichtsabnahme von weniger als 15% innerhalb 12—15 Tagen die Hypophysen maximal verkleinert sein können, also ebensoviel als nach viel weiter gehender und längerer Unterernährung, erscheint es möglich, daß schon bei geringem Grade der Unterernährung der Zustand dieser so wichtigen Drüse verändert ist. Wenn man bedenkt, mit wie vielen sowohl experimentell erzeugten oder pathologisch-krankhaft bedingten Zuständen bei Tier und Mensch eine Herabsetzung des Ernährungszustandes verbunden ist, dann wird man in allen diesen Fällen eine Störung der Hypophysentätigkeit in Betracht zu ziehen und bei der Deutung der jeweils auftretenden Symptome zu berücksichtigen haben. Die heute schon so oft empfohlene und vielfach mit Erfolg angewandte Verabfolgung von Nebennierenrinden-Präparaten bei Schwächezuständen verschiedensten Ursprungs weist auf den Nutzen solcher Auffassung hin und macht es nicht unwahrscheinlich, daß das Ziel

in vielen Fällen noch rationeller durch Darreichung von Hypophysenvorderlappen-Extrakten erreicht werden kann. Für die im I. Teil dieser Arbeit besprochene, wiederholt bestätigte Beobachtung der Autoren schließlich, daß reine Kohlenhydraternährung die Insulinempfindlichkeit zu steigern vermag, ergibt sich nunmehr als weitere Erklärung die Annahme, daß in diesen Fällen Unterernährung vorlag mit der Folge verminderter Hypophysenvorderlappen-Funktion. Eine solche aber muß notwendig zu Insulinüberempfindlichkeit führen. Wahrscheinlich gehört in das gleiche Gebiet die in Zeiten von Mangelernährung immer wieder auftauchende Beobachtung, daß leichte Fälle von Diabetes ihren Harnzucker verlieren. Die in diesen Fällen anzunehmende Dämpfung der Hypophysentätigkeit sollte in der Tat, nach Art eines abgeschwächten Houssay-Phänomens, den Folgen der diabetischen Störung entgegenwirken.

Zusammenfassung.

1. Nicht allein hohe Zuckergaben, sondern auch gewöhnliche Mischfütterung vermindert die Insulin-Schockempfindlichkeit hypophysektomierter Ratten, vorausgesetzt, daß bis in den Insulinversuch hinein gefüttert, also keine Hungerperiode vorgeschaltet wird. Läßt man dagegen die Tiere eine Reihe von Stunden vor der Insulininjektion nüchtern, so wird die Insulinempfindlichkeit maximal und zwar auch dann, wenn man vorher, bis zur Hungerpause, mit sehr viel Kohlenhydrat gefüttert hatte.

2. Eine allein aus Eiweiß und Fett bestehende Nahrung, bis zur Insulinprobe verabfolgt, vermindert die Insulin-Schockempfindlichkeit hypophysenloser Ratten wesentlich stärker als ein Futter, das alle drei Nahrungsstoffe enthält und auch stärker als reine Kohlenhydraternährung. In letztgenanntem Fall trat der Tod im Schock bei ausreichender Insulindosis fast ebenso schnell ein wie nach Vollfütterung. Eine Erklärung dieser Erscheinungen wird versucht.

3. Bei alleinigem Angebot von Glucose in 20%iger Lösung nimmt das Körpergewicht im Laufe von Wochen langsam und stetig ab als Zeichen der Unterernährung. Dabei beobachtet man eine frühzeitig einsetzende und verhältnismäßig die Körpergewichtsabnahme weit übertreffende Gewichtsverringerung von Hypophyse, Schilddrüse, Thymus, Samenblasen, Nebennieren und Ovarien. Das gleiche tritt ein, wenn man durch unzureichende Mengen gewöhnlichen Mischfutters eine langsam fortschreitende Gewichtsabnahme erzeugt.

4. Die mikroskopische Untersuchung von Hypophyse, Schilddrüsen, Nebennieren und Ovarien derart unterernährter Tiere führt zu dem Schluß, daß primär und am schnellsten die Hypophyse und die Schilddrüsen leiden und weiterhin die von der Hypophyse abhängigen anderen innersekretorischen Drüsen. Die dabei auftretenden histologischen Bilder stimmen weit-

gehend mit denen überein, die man nach Entfernung der Hypophysen beobachtet. Es bestätigt sich also die Auffassung von Mulinos und Pomerantz von der durch Unterernährung entstehenden „Pseudo-Hypophysektomie".

5. Auf die allgemeinere Bedeutung solcher durch Unterernährung auftretenden Beeinträchtigung der Hypophyse wird hingewiesen.

Schrifttum.

1) O. Riesser: Arch. néerld. Physiol. **24**, 555 (1940). — 2) Kater, J.: Dissertation Amsterdam 1939. — 3) Abderhalden, E., u. E. Wertheimer: Pflügers Arch. **205**, 547 u. 559 (1924). — 4) Grevenstuk, O., S. E. de Jongh u. E. Laqueur: Ndld. Tschr. Geneesk. **69**, 1008 (1925). — 5) Himsworth, S.: J. Physiol. (Brit.) **81**, 29 (1934). — 6) Mulinos u. Pomerantz: J. Nutrit. (Am.) **19** 493 (1940). — 7) Stephans: Endocrinology (Am.) **26**, 485 (1940).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Göttingen.
(Direktor: Prof. Dr. Ernst Frey.)

Die Wirkung von Adeninsulfat, Muskeladenylsäure und Adenosintriphosphorsäure im Froschdurchströmungspräparat und auf den Blutdruck des Kaninchens.

Von

Wolfgang Gropp.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 4. Februar 1942.)

Einleitung.

In der Klinik ist es bereits seit längerer Zeit bekannt, daß man bei Fällen von Angina pectoris durch Injektion von Organextrakten und Muskelpreßsäften eine günstige Wirkung erzielen kann.

Rothmann (1) berichtet über Versuche am Menschen mit Adenosinphosphorsäure, die er aus einem Herzmuskelextrakt herstellte. In einer Reihe von Fällen trat Verlangsamung und rhythmische Verstärkung der Herzaktion auf, die Kontraktionen wurden regelmäßiger und kräftiger.

Rigler und Schaumann (2) suchten nach einer geeigneten Methode, um die Wirkung der Extrakte zu prüfen und unternahmen zunächst Untersuchungen an den Coronararterien verschiedener Tierarten. In allen Fällen trat Erweiterung der Arterien auf, durch die der Durchfluß häufig auf das 2—3fache gesteigert wurde. Dabei konnte das Histamin als gefäßerweiternder Faktor ausgeschlossen werden. Weitere Untersuchungen derartiger Organextraktpräparate, auch bereits im Handel befindlicher, wie des Lacarnols, zeigten, daß das Adenosin in allen Extrakten vorhanden und am Kaninchenherzen noch in einer Verdünnung von 1:3 Millionen wirksam ist.

Umfangreiche Untersuchungen über dieses Gebiet hat Zipf (3, 4, 5) vorgenommen, der fand, daß intravenöse Injektionen von defibriniertem art- und körpereigenem Blut sowie Muskelpreßsäfte tödlichen Schock und Kreislaufkollaps hervorrufen können, während kleine Gaben von wenigen Kubikzentimetern eine Blutdrucksenkung erzeugen. Zipf (5) nahm eine Entstehung der wirksamen Stoffe in den Extrakten beim Zellzerfall an, denn in ungeronnenem Blut waren sie nicht vorhanden, wohl aber in geronnenem, andererseits fehlten sie in zur Gerinnung gebrachtem Blutplasma. Also war nicht der Blutgerinnungsvorgang der maßgebende Faktor. In weiteren Versuchen (4, 5) kam der Autor zu der Ansicht, es müsse sich um eine fermentative Spaltung von nucleotidhaltigem Kernmaterial handeln, wobei die wirksamen Substanzen frei würden.

Bei der chemischen Untersuchung zeigte sich, daß die „depressorische Substanz", wie Zipf sie auch nannte, sich deutlich vom Histamin unterschied, daß sie aber stets Pentose, Adenin und Phosphorsäure in gebundener Form enthielt. Mit Padutin war sie nicht identisch, ebenfalls unterschied sie sich vom Cholin und Azetylcholin, da sie auch am atropinisierten Tier noch blutdrucksenkend wirkte; auf den isolierten Warmblüterdarm wirkte sie hemmend.

Zipf (5) brachte den Nachweis, daß die depressorische Substanz in ihren physikalischen und pharmakologischen Eigenschaften genau mit der Adenylsäure übereinstimmte, und stellte als Beweis schließlich die Adenylsäure aus dem Blute dar. Die gemeinsame Wirkung von depressorischer Substanz und Adenylsäure war stets eine Blutdrucksenkung an Kaninchen, Katze und Hund, eine Erweiterung der Coronargefäße, eine Erregung des Uterus und eine Hemmung der Darmbewegung, unabhängig von vorheriger Atropinbehandlung.

H. J. Deuticke (6) fand bei seinen Untersuchungen, daß Adenosin, Muskel- und Hefeadenylsäure und Adenosintriphosphorsäure eine erregende Wirkung auf den Meerschweinchenuterus ausüben, und daß diese Wirkung mit steigender Phosphorylierung zunimmt.

W. Schoedel (7) spritzte in die Vene eines arbeitenden Muskels gefäßerweiternde Mittel wie Histamin, Azetylcholin, Adenosin und Muskeladenylsäure ein und erreichte damit über die Arbeitsmehrdurchblutung hinaus eine beachtliche Steigerung des Blutstroms zum arbeitenden Organ, was allerdings auf die Arbeitsweise des Muskels ohne Wirkung war.

Lange (8) suchte in den Organen über Histamin, dann Adenosin und Adenylsäure und schließlich Cholin und Azetylcholin hinaus nach einer „vierten" blutdrucksenkenden Substanz. Er gewann diese aus blutgefäßhaltigen Organen verschiedener Tiergattungen, und zwar ging ihre Stärke parallel ihrem Gehalt an kleinsten Arterien. Von Felix und Putzer-Reybegg (9, 10) wurde der Stoff genauer untersucht und von anderen blutdrucksenkenden Substanzen abgetrennt. Die Autoren kamen nach ihren Versuchen zu dem Schluß, die gesuchte Substanz müsse ein Guanidinpräparat sein. Lange (8) fand, daß der Stoff an Katzen auch nach Atropin blutdrucksenkend wirkte, am Trendelenburgschen Froschpräparat ergab sich stets eine Vermehrung der Durchflußmenge. Die Wirkung am Gefäßpräparat hielt so lange an, als sich die Substanz in den Gefäßen befand. Nach Entfernung stellte sich dieselbe ursprüngliche Tonuslage ein, auch konnten die Injektionen mehrmals mit gleichem Erfolg wiederholt werden.

Fleisch (11) stellte fest, daß bei der Wasserhämolyse von Gesamtblut oder gewaschenen Erythrocyten von Hund, Katze, Kaninchen und Rind eine gefäßerweiternde Substanz in Freiheit gesetzt wird, die an mit ungerinnbar gemachtem Blut durchströmten Extremitäten noch in Verdünnung 1 : 3000 gefäßerweiternd wirkte. Weiter verursachte die Substanz eine Blutdrucksenkung vor und nach Atropin bei Katzen und Kaninchen, Auslösung ascendierender Gefäßreflexe, Kontraktion des Meerschweinchenuterus vor und nach Atropin und Hemmung des isolierten Kaninchendarms. Zunächst nahm Fleisch aus quantitativen Gründen nur an, die Substanz unterscheide sich von der Adenylsäure. Aus einer späteren Veröffentlichung von Fleisch und Weger (12) geht dann hervor, daß es sich bei der fraglichen Substanz um die Adenosintriphosphorsäure oder ein anderes Adenosinderivat handeln könne.

Bei einem anderen Versuch leiteten Fleisch und Weger (13) das bei der Durchströmung einer Extremität aus der Vene fließende Blut in die Arterie der anderen Extremität ein. Dabei hatte das Venenblut der einen Extremität auf die andere gar keinen oder nur einen geringen gefäßerweiternden Einfluß. Dieser nahm erst bei tetanischer Reizung der Spenderextremität zu. Doch erreichte die Zunahme des Stromvolumens bei weitem nicht das Ausmaß, welches in der arbeitenden Extremität zu beobachten war. In Durchströmungsversuchen an den hinteren Extremitäten von Hunden und Katzen, wozu das Blut des gleichen Individuums verwendet wurde, konnten Fleisch und Weger (14) weiter noch zeigen, daß Adenosintriphosphorsäure noch in einer Verdünnung m/5 Millionen eine Gefäßerweiterung verursacht, während Muskeladenylsäure 100 mal und Hefeadenylsäure 500 mal schwächer wirksam waren.

Der Zweck meiner Arbeit ist es nun, die Wirkung des Adeninsulfats, der Muskeladenylsäure und der Adenosintriphosphorsäure auf das Froschgefäßsystem und den Kreislauf des Kaninchens zu prüfen. Dabei werden eine Reihe von Fragen aufgeworfen.

Einmal handelt es sich darum, ob überhaupt eine gefäßerweiternde Wirkung auftritt, weiter, in welchem Verhältnis die Wirkung der einzelnen Substanzen zueinander steht, z. B. ob mit steigendem Grad der Phosphorylierung auch ein steigender Grad der Wirksamkeit auftritt. Weiter ist zu prüfen, ob die Ergebnisse mit den Befunden Langes über die Durchströmung des Trendelenburgschen Froschpräparates mit Organextrakten Ähnlichkeiten aufweisen.

Material und Technik.

Die Durchströmungsversuche wurden an Rana esculenta während der Zeit vom 13. 5. bis 22. 7. 1941 durchgeführt. Benutzt wurde das etwas abgeänderte Trendelenburgsche Froschpräparat, wobei folgendermaßen vorgegangen wurde:

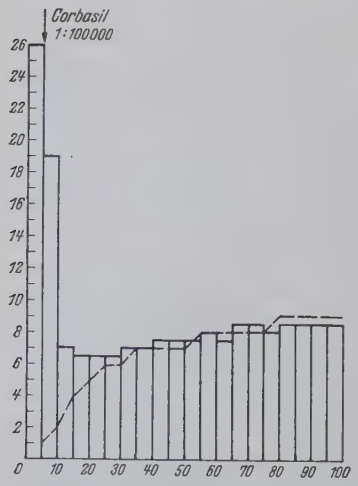


Abb. 1. Abszisse: Zeit in Minuten. Ordinate: Durchflußmenge in ccm und Gewichtszunahme in g. Die Säulen geben die Durchflußmenge, die gestrichelte Linie die Gewichtszunahme an.

Der Frosch wurde mittels Durchtrennung des Rückenmarks getötet, dann das Gehirn und Rückenmark mit einer Nadel zerstört. Das Herz wurde präpariert und eine Kanüle zur Einleitung der Durchströmungsflüssigkeit durch die Herzkammer in die linke Aorta eingeführt, während die rechte Aorta unterbunden wurde. Die zum Herzen zurückströmende Flüssigkeit floß durch die eröffneten Vorhöfe ab, wurde fortlaufend aufgefangen und nach je 5 Minuten gemessen. Während des ganzen Versuchs lag der Frosch auf einer Waage, so daß nach je 5 Minuten seine Gewichtszunahme festgestellt werden konnte.

Um die gefäßerweiternde Wirkung eines Stoffes am Trendelenburgschen Präparat deutlich zu machen, ist es notwendig, die durch die Rückenmarkszerstörung dilatierten Gefäße zu verengern. Eine Konstriktion versuchte ich zunächst durch einen Zusatz von Suprarenin 1 : 1 Million zu erreichen. Dabei stellte sich aber heraus, daß die Konstriktion nur verhältnismäßig kurze Zeit anhielt, was ich auf die geringe Haltbarkeit der Suprareninlösung zurückführe. Eine sehr gute und recht konstante Verengerung der Gefäße erreichte ich aber mit dem Di-oxi-nor-Ephedrin, dem Corbasil-Bayer.

Die Versuche begannen nun mit einer kurzen Durchströmungsperiode mit Ringerlösung. Dieser folgte dann die Durchströmung mit Ringerlösung, der das 1 %ige Corbasil der Stammlösung im Verhältnis 1 : 100000 zugesetzt wurde. Ein Beispiel der Corbasilwirkung ist in der Abb. 1 graphisch dargestellt. Auf der Abszisse ist die Zeit in Abständen von 5 Minuten eingetragen, während die Ordinate die Menge der durch das Gefäßsystem geflossenen Flüssigkeit in ccm und die Gewichtszunahme des Frosches in g enthält. Die eingetragenen Rechtecke stellen die Flüssigkeitsmenge, die gestrichelte Linie die Gewichtszunahme dar.

Nachdem auf diese Weise die Froschgefäße kontrahiert waren, und die Durchflußmenge mindestens 15 Minuten einen konstanten Wert beibehalten hatte, folgten die Durchströmungsversuche mit den angegebenen Stoffen.

Das Adeninsulfat lag in Substanz vor (Molekulargew. 233). Es wurden Lösungen von 1 : 500 bis 1 : 16000 zur Durchströmung benutzt. Um einen Vergleich der Wirkung anstellen zu können, wurde der Molgehalt der Lösungen berechnet. In den Versuchsergebnissen wurden bei allen Substanzen nur die molaren Lösungen angegeben. Die Muskeladenylsäure lag in Form des MAP-Henning (Molekulargewicht 347) vor, von welchem in Ampullen zu 2 ccm 20 mg Substanz in Lösung vorhanden sind. Aus dieser Lösung wurden m-Lösungen hergestellt und zur Durchströmung benutzt. Die Adenosintriphosphorsäure (Molekulargewicht 476) wurde in Form des ATP-Henning angewandt (jetzt Triadenyl genannt), von dem ebenfalls in 2-ccm-Ampullen je 20 mg Substanz in Lösung enthalten sind. Die Lösungen wurden der Einfachheit halber in der gleichen Weise verdünnt wie die Muskeladenylsäure, es wurde also zur Herstellung eines bestimmten Verdünnungsgrades genau soviel Ringerlösung benutzt wie bei MAP. Erst später wurde die Umrechnung auf das Molekulargewicht vorgenommen. So entstanden Lösungen von m/681 bis m/76160.

Der I. G. Farbenindustrie A.-G., besonders Herrn Dr. Baumgarten, Hannover, danke ich für die freundliche Vermittlung von Corbasil zu meinen Versuchen. Für die Überlassung von MAP und Triadenyl danke ich dem Chem. Pharm. Werk Henning, Berlin-Tempelhof.

Versuchsergebnisse.

Bereits bei der Zerstörung des Gehirns und des Rückenmarks der Frösche ergab sich eine interessante Frage:

Sind bei diesem Froschpräparat die Gefäße maximal erweitert, oder ist die Dilatation nur eine unvollständige oder auf bestimmte Gefäßgebiete beschränkte? Um zunächst diese Frage zu prüfen, durchströmte ich Froschpräparate 30 Minuten lang mit Ringerlösung und danach mit verschiedenen Konzentrationen von MAP-Lösungen. Bei MAP m 7000 war kein deutlicher Effekt festzustellen. Bei einer Lösung m 3500 war eine deutliche Vermehrung der Durchflußmenge von 10.5 auf 13.5 ccm in

5 Minuten zu beobachten, die dann wieder auf den vorherigen Wert sank. Es handelte sich also um einen nur kurze Zeit anhaltenden Effekt. Auch die Lösung m/1000 bewirkte bei mehreren Versuchen jedesmal eine Vermehrung der Durchflußmenge, die schnell einen Höhepunkt erreichte, dann aber wieder abnahm. Wurde danach wiederum mit Ringerlösung und anschließend erneut mit MAP durchströmt, so trat diesmal keine Gefäßerweiterung ein, sondern ein Absinken der Durchflußmenge, welche auch auf nochmalige Ringerlösungsdurchströmung nicht zurückging. Aus diesen Versuchen ist wohl zu schließen, daß die Gefäße beim Frosch mit zerstörtem Hirn und Rückenmark entweder nicht völlig dilatiert oder nicht alle Gefäßgebiete von dieser Erweiterung betroffen sind.

Durchströmungsversuche mit Adeninsulfat am durch Corbasil zur Konstriktion gebrachten Gefäßsystem.

Es wurden Versuche mit Adeninsulfat in Verdünnungen von m/118 bis m 3728 vorgenommen. Um in den einzelnen Versuchen die Veränderungen der Durchflußmenge zahlenmäßig ersehen zu können, habe ich die konstante Durchflußmenge bei Corbasil-Ringer-Durchströmung vor Zusatz der zu prüfenden Substanz gleich 100 % gesetzt. Die Vermehrung der Durchflußmenge wird ebenfalls in Prozenten angegeben, die dann zu dem ursprünglichen Wert von 100 % hinzugezählt werden müssen.

Eine m 118 Adeninsulfatlösung, das ist die höchste von mir untersuchte Konzentration, erzeugte eine erhebliche Durchflußsteigerung. So stieg beispielsweise in den ersten 5 Minuten die Durchflußmenge steil an, erreichte nach weiteren 10 Minuten ihren Höchstwert, welcher einer Steigerung von 162 % entsprach, und fiel dann langsam und stetig ab, obwohl weiter mit der Adeninsulfatlösung durchströmt wurde. Die Gewichtszunahme war von Anfang an gleichmäßig und stetig, auf Zusatz von Adeninsulfat trat keine Änderung ein. Das Gewicht stieg im Durchschnitt in 5 Minuten um 1 g, von einem Höchstwert an blieb das Gewicht für die Dauer des Versuchs völlig gleich. Die Lösung m/233 führte ebenfalls zu einer erheblichen Erweiterung der Gefäße. Der Anstieg erfolgte ähnlich wie im vorigen Versuch, es kam zu einer Steigerung von 153 %, in anderen Versuchen von 110 und 55 %. Auch hier erfolgte der Rückgang langsam in 30 bis 40 Minuten, um dann etwa denselben Wert zu erreichen, der vor Zusatz der Adeninsulfatlösung festgestellt worden war. Die Gewichtszunahme verhielt sich wie im vorigen Versuch.

Auch bei der m/466 Lösung von Adeninsulfat erfolgte eine starke Gefäßerweiterung mit Zunahme um 135 und 52 %. Bei zwei Versuchen wurde nach der Einwirkung von Adeninsulfatlösung der Ausgangspunkt nicht wieder erreicht, sondern der Endpunkt lag höher. In einem dritten Versuch wurde der Ausgangswert nach 70 Minuten wieder erreicht. Die m/932- und m/1864-Lösungen wiesen gewisse Ähnlichkeiten auf. Mit der ersten Lösung wurden Durchflußvermehrungen von 233 und 83 % erzielt,

mit der letzteren solche von 71 und 65%. Die Dauer der Durchflußsteigerungen betrug bei allen Versuchen 50 bis 60 Minuten. Die Gewichtszunahme zeigte wie bei den vorangehenden Versuchen keine Besonderheiten. Als Beispiel für die bisher beschriebenen Versuche möge die graphische Darstellung der Ergebnisse eines Versuchs dienen (Abb. 2). Bei der Lösung m/3728 hatte das Adeninsulfat keine gefäßerweiternde Wirkung mehr, alle Kurven zeigten einen völlig geraden Verlauf. Die Gewichtszunahme verhielt sich wie bei früheren Versuchen.

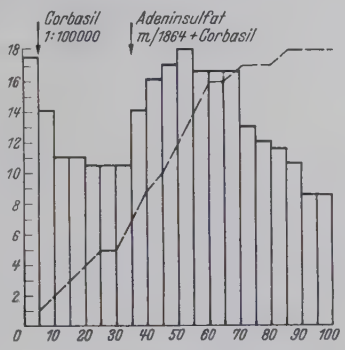


Abb. 2. Beschreibung wie bei Abb. 1.

Durchströmungsversuche mit Muskeladenylsäure am durch Corbasil zur Konstriktion gebrachten Gefäßsystem.

Der Inhalt der 2-ccm-Ampulle MAP (= 20 mg Substanz in Lösung) wurde mit Ringer-Corbasillösung zu m/500- bis m/3500-Lösungen verdünnt und zur Durchströmung benutzt.

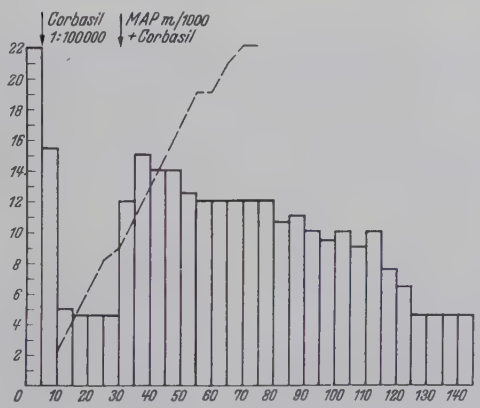


Abb. 3. Beschreibung wie bei Abb. 1.

Bei der Lösung m/500 trat eine unwesentliche Erhöhung der Durchflußmenge auf, bemerkenswerterweise sank aber die Durchflußmenge danach sehr schnell ab, so in einem Versuch von 5 ccm nach 20 Minuten auf 2 ccm, in einem anderen von 7.5 ccm in 40 Minuten auf 3 ccm. Es strömte also nach Einwirkung der MAP-Lösung wesentlich weniger Flüssigkeit durch das Gefäßsystem als vorher. In solch hoher Konzentration scheint das MAP eine vasokonstriktorische Wirkung zu entfalten.

Die Lösung m/1000 führte bei allen Versuchen zu einer Steigerung der Durchflußmenge. So trat bei dem Versuch mit dem größten Effekt eine Steigerung um 233 % auf, die übrigen folgten mit 92, 89, 69 und 42 %. Das Gewicht verhielt sich wie in den früheren Versuchen. Die Kurve (Abb. 3) möge als Beispiel für diese Versuche dienen. Auch hier ist die Wirkung auf die Gefäße keine andauernde, sondern nur eine zeitliche. Bei allen Versuchen kehrte die Durchflußmenge nach einiger Zeit auf den vor der Durchströmung mit MAP innegehabten Wert zurück, obwohl weiter mit MAP durchströmt wurde.

MAP m/2000 erzielte einen wesentlich geringeren Effekt. Zweimal gab es Steigerungen der Durchflußmenge von 36 und 33 %, die wiederum nicht lange anhielten, zweimal war der Effekt nicht deutlich. Besonderheiten in bezug auf die Gewichtszunahme traten nicht auf.

Bei MAP m/3000 liegen die Durchflußsteigerungen unter 10 %, so daß man von einer gefäßerweiternden Wirkung der Lösung nicht mehr sprechen kann. Bei einem Versuch zeigte die Kurve nach der Durchströmung auch fernerhin einen geraden Verlauf, während bei einem anderen Versuch ohne vorangehende Durchflußsteigerung ein langsames Absinken der Durchflußmenge auftrat. Die Gewichtszunahme zeigte in keinem Fall Besonderheiten.

Durchströmungsversuche mit Adenosintriphosphorsäure nach Konstriktion der Gefäße durch Corbasil.

Die Versuche mit Adenosintriphosphorsäure = Triadenyl wurden in derselben Weise vorgenommen wie die mit MAP. Aus dem Inhalt der 2-ccm-Ampulle wurden Lösungen von m/680 bis m/76160 zur Durchströmung hergestellt.

Zunächst wurde ein Versuch mit Triadenyl m/680 vorgenommen. Die Lösung erzeugte eine Steigerung der Durchflußmenge um 73 %, der aber sehr schnell eine starke Konstriktion der Gefäße folgte. Die Wirkung ist also ähnlich der von MAP in hoher Konzentration. Das Gewicht nahm gleichmäßig und schnell bis zum Ende des Versuchs zu. Die Lösung m/1360 erzeugte eine starke Erweiterung der Gefäße, so bei einem Versuch um 212 %, bei anderen von 55 und 42 %. Die Wirkung stieg wieder sehr schnell bis zu einem Maximum an, um dann langsamer, im Durchschnitt in 25 bis 40 Minuten wieder zum früheren mit Ringer-Corbasillösung erreichten Wert abzusinken. Die Gewichtszunahme verhielt sich wie in allen früheren Versuchen. Lösungen m/2720 verursachten Durchflußsteigerungen von 90 und 50 %, die im Ablauf den vorigen Kurven entsprechen. Die Gewichtszunahme war völlig gleichmäßig.

Lösungen m/4760 hatten Steigerungen der Durchflußmenge von 145 % zur Folge, bei anderen Versuchen von 50 und 27 %. Die durchfluß-

steigernde Wirkung hielt 25 bis 40 Minuten an. Gewichtszunahme ohne Besonderheiten.

Die Lösung m/9520 steigerte die Durchflußmenge um 115 und 58 %. Die Effekte waren den früher gesehenen ähnlich. Zur Veranschaulichung dieser Versuche wird eine Kurve wiedergegeben (Abb. 4).

Es wurden weiter Verdünnungen von Triadenyl erprobt, die Ergebnisse waren folgende:

Bei Lösungen m/19040 gab es Steigerungen von 71 und 47 %, bei m/38080 solche von 100 und 64 %.

Bei Lösungen m/76160 schien die Grenze der Wirksamkeit zu liegen. Bei einem Versuch trat eine größere Durchflußsteigerung auf, während bei vier anderen Versuchen kein Effekt zu beobachten war. Irgendwelche Besonderheiten in bezug auf Ablauf der Durchflußsteigerung oder Gewichtszunahme traten auch bei diesen letzten Versuchen nicht auf.

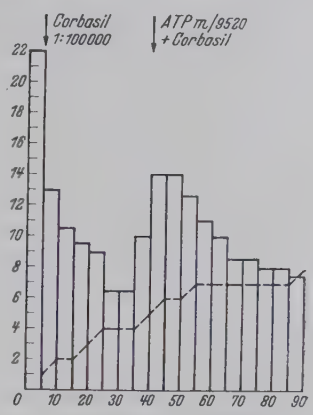


Abb. 4. Beschreibung wie bei Abb. 1.

Untersuchungen des Einflusses von Muskeladenylsäure, Adenosintriphosphorsäure und Adeninsulfat auf den Blutdruck des Warmblüters.

Nachdem der Einfluß der oben erwähnten Substanzen auf den Gefäßtonus am Frosch hinreichend untersucht worden war, erhob sich die Frage, wie sich die Gefäße des Warmblüters bei Einführung derselben Stoffe in den Blutkreislauf verhalten würden. Der Versuch wurde am Kaninchen durchgeführt.

Versuchsanordnung und Ergebnisse.

Das Tier (weibl., Gew. 3200 g) erhielt 1 Stunde vor Beginn des Versuchs als Narkoticum 22 ccm 25 %iges Urethan subcutan. Zur Messung des Blutdruckes wurde in die rechte Carotis eine Kanüle eingebunden, die einzelnen zu untersuchenden Lösungen wurden in die linke Vena jugularis eingespritzt. Blutdruck und Zeit wurden fortlaufend auf einer Rußtrommel registriert, zur Injektion wurden m/50 Lösungen von den einzelnen Substanzen hergestellt.

Der Versuch lief folgendermaßen ab: Zu Beginn betrug der Blutdruck des Kaninchens 116 mm Hg. Zunächst erfolgte eine Injektion von 0,1 ccm m/50 Adeninsulfat. Eine Wirkung war nicht zu beobachten. Darauf erfolgte eine Injektion von 1,0 ccm Adeninsulfat, der Druck blieb aber auf einem Mittelwert von 114 mm. Einige Minuten später wurde eine Injektion von 5,0 ccm m/50 Muskeladenylsäure vorgenommen, worauf der Blutdruck auf 36 mm abstürzte. Die Drucksenkung betrug also 72 mm Hg

oder 67 %. Nach 3½ Minuten war wieder der Druck von 100 mm erreicht und blieb auf dieser Höhe. Nach weiteren 7 Minuten wurde 1,0 m/50 Adenosintriphosphorsäure injiziert, worauf der Druck auf 26 mm herunterging, die Senkung betrug 74 mm = 74 %. Die Wirkung hielt etwa 8 Minuten an, worauf der Druck sich um einen Wert von 73 mm bewegte. 40 Minuten nach der letzten Einspritzung erfolgte eine Injektion von 5,0 ccm Adeninsulfat, worauf der Blutdruck von 84 auf 54 mm Hg abfiel, das bedeutet 30 mm oder 35,7 %. Die Wirkung hielt 3½ Minuten an, worauf der Druck wieder 72 mm betrug. Nun wurde 0,1 ccm Muskeladenylsäure eingespritzt, worauf der Druck auf den Wert von 50 mm herunterging, wo er 3½ Minuten verblieb; Senkung 22 mm = 31 %. Nach einer spontanen Drucksenkung wurde bei 52 mm Druck 0,1 ccm Adenosintriphosphorsäure eingespritzt, worauf der Druck auf 26 mm abfiel; Senkung 26 mm = 50 %. Dauer 6½ Minuten. 32 Minuten später erfolgte eine Einspritzung von 5,0 ccm Adeninsulfat, welche keine Wirkung zeigte. Bei einem Druck von 44 mm erzeugte 0,1 ccm Muskeladenylsäure eine Senkung von 6 mm (= 14 %) und 3 Minuten Dauer. 6 Minuten später ließ 0,1 ccm Adenosintriphosphorsäure den Druck von 46 auf 32 mm abfallen; Senkung 14 mm = 31 %. Zum Schluß erzeugte 0,1 ccm Adenosintriphosphorsäure eine Senkung von 43 auf 30 mm; Erniedrigung von 13 mm = 30 %.

Das Ergebnis der Injektion jeder einzelnen Substanz habe ich in je einer Tabelle zusammengefaßt (Tabelle 1a, b, c). Dabei sind in der ersten Spalte die eingespritzten Mengen in ccm eingetragen, in der zweiten Spalte die erreichte Blutdrucksenkung in % und in der dritten Spalte die Dauer der Blutdrucksenkung in Minuten. Wichtig für die Beurteilung der Wirkung der einzelnen Stoffe ist auch der jeweilige Anfangsdruck, bei dem die Injektion vorgenommen wurde, denn ein schon vor der Injektion sehr niedriger Blutdruck wird eine weitere Blutdrucksenkung sehr viel geringer erscheinen lassen als ein hoher Druck. In der Tabelle ist auch dieser Erscheinung dadurch Rechnung getragen, daß ein Querstrich die Grenze anzeigt, bei der der Blutdruck nur noch die Hälfte des ursprünglichen Wertes beträgt. Die Zahlenangaben unterhalb dieses Querstriches sind also höher zu bewerten als die darüber stehenden.

Tabelle 1.

Injizierte Menge m/50	Blutdruck-senkung in %	Dauer der Blut-drucksenkung in Minuten
	a: Adeninsulfat.	
0,1	—	
1,0	—	
5,0	35,7	3½
5,0	—	—
	b: MAP.	
0,5	67	3½
0,1	31	3½
0,1	14	3
	c: Triadenyl.	
1,0	74	8
0,1	50	6½
0,1	31	4
0,1	30	5

Der Vergleich der Substanzen zeigt, daß das Adeninsulfat bei weitem die geringste Wirksamkeit besitzt. Das MAP besitzt zunächst eine sehr gute Wirksamkeit, liegt doch sein Effekt fast so hoch wie der des Triadenyls, obwohl nur die Hälfte der Lösung benutzt wurde. Bei weiteren Einspritzungen läßt die Wirksamkeit aber nach, besonders bei sinkendem Druck ist die Wirkung gering. Das Triadenyl zeigt bei allen Versuchen eine große Wirkung, die zudem auch sehr lange anhält. Besonders auch bei niedrigem Blutdruck sind die Effekte noch sehr groß. Diese Wirkung entspricht etwa den am Froschgefäßsystem gewonnenen Versuchsergebnissen, bei denen das Triadenyl ja auch die bei weitem größte Wirksamkeit entfaltete.

Zusammenfassung.

Zusammenfassend läßt sich über die Wirkung von Adeninsulfat, Muskeladenylsäure (MAP) und Adenosintriphosphorsäure (ATP, Triadenyl) auf die Gefäße von Frosch und Kaninchen folgendes aussagen:

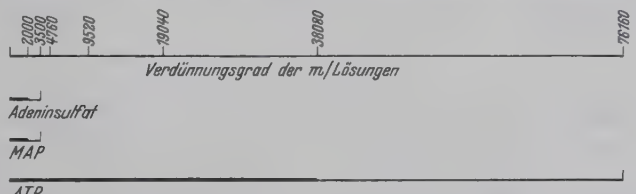


Abb. 5. Auf der oberen Linie ist der Grad der Verdünnung der Untersuchungsflüssigkeiten angegeben. Die darunter gezeichneten Linien geben den Wirkungsgrad der einzelnen Substanzen an, und zwar zeigt der stark ausgezogene Teil starke Wirksamkeit an, der dünne Teil nur noch schwache Wirkung.

1. Beim Frosch mit zerstörtem Hirn und Rückenmark scheinen die Gefäße nicht völlig erweitert zu sein, da sich bei Durchströmung mit verschiedenen Konzentrationen von MAP die Durchflußmenge erhöht.

2. Beim Vergleich von Adeninsulfat, Muskeladenylsäure und Adenosintriphosphorsäure am mit Corbasil zur Konstriktion gebrachten Gefäßsystem des Frosches zeigte sich bei allen drei Substanzen innerhalb eines bestimmten Konzentrationsbereiches eine gefäßerweiternde Wirkung. Das Adeninsulfat wirkte bereits in einer Konzentration von m/118 gefäßerweiternd, während bei MAP in m/500 und Triadenyl in m 680 Lösung eine Gefäßkonstriktion auftrat. Das Adeninsulfat und das MAP gleichen sich insofern, als bei beiden Substanzen die Grenze ihrer gefäßerweiternden Wirkung bei einem ähnlichen Verdünnungsgrad liegt, nämlich bei einer m/3728- und m/3500-Lösung. Die Wirksamkeit der Adenosintriphosphorsäure liegt etwa 20mal höher, sie klingt ab bei einer m 76160-Lösung. Die folgende Darstellung (Abb. 5), die derjenigen Fleischs über die Wirksamkeit der von ihm untersuchten Stoffe entspricht, gibt einen schnellen

Überblick über den Wirkungsgrad der von mir untersuchten Substanzen. Auf der oberen Line sind die benutzten Verdünnungsgrade angegeben. Die darunter gezeichneten Strecken zeigen den erreichten Grad der Wirksamkeit für jede Substanz an, und zwar zeigen die stark ausgezogenen Linien eine gute Wirksamkeit an, während die dünnen einen schwächeren Wirkungsgrad darstellen. In der Abb. 5 kommt deutlich der Unterschied im Effekt von Adeninsulfat und MAP einerseits und der Adenosintriphosphorsäure andererseits zum Ausdruck.

3. Am Kaninchen zeigte sich beim Vergleich der drei zu prüfenden Substanzen, daß das Adeninsulfat die bei weitem geringste Wirksamkeit besitzt, und zwar war die erzielte Blutdrucksenkung etwa 50mal geringer als die der anderen Substanzen. Bei der ersten Injektion brachte eine bestimmte Menge MAP den gleichen Effekt hervor wie die doppelte Menge Triadenyllösung. Bei weiteren Injektionen ließ die Wirksamkeit aber nach, besonders bei niederem Anfangsdruck war seine Wirkung gering. Die Triadenyllösung war in allen Versuchen sehr wirksam, zudem hielt die Blutdrucksenkung auch bedeutend länger an als bei den beiden anderen Substanzen.

Schluß.

Es ergibt sich somit für die Wirkung des Adeninsulfats, der Muskeladenylsäure (MAP) und der Adenosintriphosphorsäure (Triadenyl) auf die Gefäße des Frosches eine Vasokonstriktion bei Einwirkung hoher Konzentrationen von MAP und Triadenyl eine Gefäßerweiterung bei allen drei Substanzen innerhalb gewisser Verdünnungsgrade. Dabei sind am Froschgefäßsystem das Adeninsulfat und das MAP etwa gleich wirksam, während die Wirksamkeit der Adenosintriphosphorsäure etwa 20mal höher liegt. Was die Frage anbetrifft, ob die Wirksamkeit der Substanzen von ihrer Konzentration abhängt, so ließ sich feststellen, daß lediglich das MAP an einem bestimmten Punkte seine höchste Wirksamkeit entfaltet, während die beiden anderen Substanzen innerhalb eines bestimmten Bereiches verschiedener Konzentrationen stets die gleiche Wirkung aufwiesen.

Die Form der Kurven verhielt sich bei allen drei Substanzen etwa gleich, es erfolgte stets ein schneller Anstieg und langsames Absinken der Wirkung. Die Gefäßdilatation klingt bereits ab, während das Präparat noch mit der Versuchslösung durchströmt wurde.

Was die Frage des Verhältnisses von Wirkungsgrad zum Grad der Phosphorylierung der einzelnen Substanzen angeht, so ist aus den Versuchen am Frosch nur zu sagen, daß die dreifach phosphorylierte Adenosintriphosphorsäure sehr viel wirksamer ist als die beiden anderen untersuchten Stoffe. Der Versuch am Kaninchen hat die früheren Versuche bestätigt und gezeigt, daß die Wirksamkeit der Substanzen mit dem Grad der Phosphorsäurebindung zunimmt.

Der Versuch am Kaninchen hat gezeigt, daß die Blutdrucksenkung nicht bei jeder Injektion wiederum in gleicher Höhe auftritt, sondern daß sich die Wirkung erschöpft.

Über den Angriffspunkt der Substanzen läßt sich nur wenig sagen. Festgestellt kann nur werden, daß er nicht zentral sondern peripher liegen muß, da die Versuche ja am Frosch mit zerstörtem Gehirn und Rückenmark durchgeführt wurden.

Literatur.

1) Rothmann: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **155**, 129 (1930). — 2) Rigler u. Schaumann: Klin. Wschr. **1930**, S. 1728. — 3) Zipf, Naunyn-Schmiedebergs Arch. **157**, 95. — 4) Zipf: Ebenda **157**, 97. — 5) Zipf: Ebenda **160**, 579 (1931). — 6) Deuticke: Pflügers Arch. **230**, 237 (1932). — 7) Schoedel: Ebenda **237**, 190 (1936). — 8) Lange: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **164**, 417 (1932). — 9) Felix u. Putzer-Reybegg: Ebenda **164**, 402 (1932). — 10) Felix: Klin. Wschr. **176** (1933). — 11) Fleisch: Pflügers Arch. **239**, 345 (1937). — 12) Fleisch u. Weger: Ebenda **239**, 476 (1937). — 13) Fleisch u. Weger: Ebenda **239**, 362 (1937). — 14) Fleisch u. Weger: Ebenda **239**, 354 (1937).

Aus dem Physiologischen und Allgemeinen Pathologischen Institut der Universität Debrecen.

Untersuchungen am Blutbild total sympathektomierter Katzen.

Von

J. Pásztor, K. Lissák und **J. Martin.**

(Eingegangen am 13. Dezember 1941.)

Über den Zusammenhang von autonomen Nervensystem und Blutbild sind in der Literatur viel, aber einander ziemlich entgegensprechende Angaben vorhanden. Wenn man annimmt, daß zwischen dem autonomen Regulationsmechanismus und Blutbild gewisser Zusammenhang besteht, so entsteht die Frage, wie das Blutbild im Erregungszustand des autonomen Nervensystems durch direkte Einwirkungen beeinflußt wird. Falta und Mitarbeiter (1) haben im parasympathischen Erregungszustand Lymphocytose und Eosinophylie, bei sympathischer Erregung dagegen Aneosinophylie und Neutrophylie beobachtet. Diese Feststellungen wurden von mehreren Autoren bekräftigt. Das vagotonische Blutbild ist nach den Mitteilungen von Schilling (2) und Domarus (3) ein klinisch allgemein angenommener Begriff. Bei den von ausgesprochener Vagotonie begleiteten Krankheiten, wie Asthma bronchiale, spatische Obstipation, Urticaria findet man häufig das im anaphylaktischen Schock auch beobachtete auf Parasympathicotonie charakteristische Blutbild, und zwar Leukopenie mit relativer Lymphocytose und Eosinophylie. Bei sympathischen Erregungen dagegen wird die prozentuelle Abnahme der Eosinophylen und Lymphocyten von einer starken Leukocytose begleitet. Nach Adrenalin — als dem Hauptvertreter der sympathicomimetischen Substanzen – zeigt das Blutbild die auf das sympathicotonische Blutbild charakteristischen Eigenschaften. Nach den Untersuchungen von Falta (1) wird durch Adrenalin neutrophyle Hyperleukocytose und Verminderung der Eosinophylen hervorgerufen. Über die Wirkung des parasympathicomimetischen Pilocarpins hat sich noch keine einheitliche Auffassung entwickelt. Einige Autoren haben ein auf Vagotonie charakterisches Blutbild gefunden, während andere Autoren auch Leukocytose und sogar Lymphocytose beobachtet haben. Die Atropinwirkung zeigt ebenfalls keine Gesetzmäßigkeit.

Bemerkenswert sind jene Untersuchungen, die auf den Zusammenhang zwischen blutbildregulierendem Mechanismus und vegetativem Zentrum des Zentralnervensystems hingewiesen haben. Nach den Untersuchungen von Hoff und Lindhardt (4) folgt der intravenösen Bakterieneiweiß-Injektion eine starke Leukocytose; wenn aber vor der Injektion das Rücken-

mark an der Halsgegend durchtrennt wurde, so ist die Leukocytose ausgeblieben. Rosenow (5) konnte bei Kaninchen durch Hirnstich Leukocytose mit Linksverschiebung hervorrufen. Muto und Mitarbeiter (6) konnten feststellen, daß nach vorheriger Durchschneidung beiderseitiger Nn. splanchnici auf Typhus-vaccine sich keine Leukocytose mehr entwickelt. Zur Erklärung dieser Feststellungen haben Verff. angenommen, daß die Leukocytose von der Erregung der vegetativen Zentren so hervorgerufen wird, daß die Nn. splanchnici die Erregung zur Leber weiterleiten, wo dann Leukocytose-fördernde Substanzen freigesetzt werden, die mit dem Blutstrom zum Knochenmark gelangen und ihre Wirkung dort ausüben. In letzter Zeit haben Beer und Bedacht (7) die Blutbildveränderungen nach Luftfüllung der Hirnventrikel, nach Pyrifer und Adrenalininjektionen am chronischen und akuten splanchnicusdurchschnittenen Kaninchen untersucht. Bei chronischer Durchschneidung fanden die Verff. gegenüber dem normalen Tier die charakteristische massive Leuko- und Reticulocytose stark abgeschwächt, während bei akuter Durchschneidung nach Luftfüllung der Hirnventrikel keine verwertbaren reaktiven Blutveränderungen aufgetreten sind.

Nach den erwähnten Versuchsergebnissen wollten wir die Frage klären, wie sich das Blutbild total sympathektomierter Tiere verhält und wie diese Tiere auf die parenterale Zufuhr leukocytoseauslösender Bakterieneiweiße reagieren. Die in der Literatur vorhandenen Angaben weisen darauf hin, daß die Änderungen des Erregungszustandes des autonomen Nervensystems von einer qualitativen und quantitativen Veränderung der Blutzellen begleitet sind. Es wäre zu erwarten, daß das Blutbild total sympathektomierter Tiere stark vagotonischen Charakter aufweisen soll, mit Eosinophylie und Lymphocytose.

Wir haben unsere Versuche an sympathektomierten Katzen vorgenommen, nach Cannon und Mitarbeiter (8). In drei 7—10 Tage einander folgenden Operationsphasen haben wir die thoracalen und abdominalen Grenzstränge, das Ganglion coeliacum und das Ganglion mesentericum sup. entfernt. Vom 8.—10. Tage nach der letzten Operation, d. h. nach vollkommener Heilung, haben wir längere Zeit hindurch das Blutbild der sympathektomierten Tiere untersucht, konnten aber niemals eine auf dem vagotonischen Blutbild charakteristische Veränderung, wie z. B. Vermehrung der Lymphocyten und Eosinophylen beobachten. Bei normalen Katzen beträgt die Zahl der Eosinophylen im Mittelwert 5—6%, nach Klieneberger (9) kann diese Zahl unter normalen Verhältnissen auch bis 13% steigen. Diese hohen Werte stehen aber wahrscheinlich mit dem Vorhandensein von Darmwürmern in Zusammenhang.

Aus Tabelle 1 geht hervor, daß die prozentuale Zahl der Eosinophylen niemals die normalen Werte übertrifft. Dasselbe steht auch auf die Lymphocyten, die 33% der gesamten Leukocytenzahl ausmachen. Bei sympathektomierten Tieren sind diese Werte meistens niedriger, trotzdem

Tabelle 1. Sympathektomierte Katzen.

Zeit	Hb %	Erythrocyten	Leucocyten	Thrombocyten	Segment %	Stab %	Jugend %	Eosinophilen %	Lymphocyten %	Monocyten
Nr. 1. (Letzte Operation 10. V. 1940.)										
I. 30. XI. 1940	65	5,046 000	19,200	283,000	75	3	—	6	15	1
II. 22. XII. 1940	75	6,640 000	25,300	132,800	55	4	—	7	36	1
III. 25. III. 1941	81	6,960 000	17,400	334,000	61	4	—	13	20	2
Nr. 2. (Letzte Operation 26. I. 1941.)										
I. 23. II. 1941	60	5 360 000	9,000	589,000	67	2	—	9	21	1
II. 4. III. 1941	43	2,760 000	11,900	463,080	70	2	—	7	19	2
III. 14. III. 1941	75	5,740 000	13,700	602,700	65	1	—	7	26	1
Nr. 3. (Letzte Operation 27. I. 1941.)										
I. 23. II. 1941	70	6,180 000	13,700	519,120	75	3	1	4	16	1
II. 4. III. 1941	74	6,180 000	14,100	679,000	73	3	1	13	8	2
III. 14. III. 1941	85	7,180 000	29,500	789,800	81	5	—	6	7	1

theoretisch bei diesen Tieren starke Vagotonie auftreten müßte und ein charakteristisches vagotonisches Blutbild zu erwarten wäre. Die an sympathektomierten Katzen vorgenommenen Versuche [Cannon (10)] zeigen aber, daß eine dominierende parasympathische Aktivität niemals beobachtet werden kann. Diese Beobachtungen werden auch durch den von uns vorgenommenen Versuch bekräftigt, da wir im Blutbild keine auf Vagotonie charakteristische Verschiebungen gefunden haben. Die von Eppinger und Hess (11) eingeführte Vagotonie und Sympathicotonie sind klinische Begriffe, die aber experimentell meistens nicht verwendet werden können. —

In einer zweiten Versuchsserie haben wir normale und sympathektomierte Katzen parenteral mit Bakterieneiweiß behandelt. Es wurden den Tieren i. v. 50 Millionen abgetötete Coli-Bazillen (Pyrifer, Aristopharm) injiziert. 1, 2, 4, 7 und 24 Stunden nach der Injektion haben wir bei den Tieren das Blutbild untersucht und gleichzeitig auch die rectale Temperatur bestimmt. Tabellen 2 und 3 zeigen die erhaltenen Ergebnisse. Bei den normalen Tieren konnten wir typische Leukocyten-Reaktion beobachten. Eine Stunde nach der Injektion ist bei den Tieren Schüttelfrost aufgetreten, zur gleichen Zeit bestand Leukopenie, die nach 4—7 Stunden von starker Leukocytose mit Linksverschiebung und Lymphopenie gefolgt wird. Nach 24 Stunden bestehen schon wieder die normalen Verhältnisse. —

Aus Tabelle 3 geht hervor, daß diese gut bekannte Reaktion an das Blutbild sympathektomierter Katzen nicht zustandekommt. Es besteht zwar eine Leukopenie, aber es folgt keine Leukocytose und die Leukocyten-Zahl erreicht während des Versuchs niemals die Ausgangswerte. Bemerkenswert ist außerdem das Ausbleiben der Linksverschiebung. Die Versuchsergebnisse sprechen für die Rolle des sympathischen Nervensystems in der Abwehr der schädlichen Einwirkungen im Organismus.

Tabelle 2. Normale Katzen.

Zeit	Temperatur °C	Leukocyten	Eosinophilen %	Myelocyten %	Jugend %	Stab %	Segment %	Lymphocyten %	Monocyten %
			Nr. 1.						
Normal	38	18,500	3	—	—	—	55	37	1
Nach Pyrifer 1 Std.	37,5	2,800	4	—	—	8	11	72	1
„ „ 2 „	38,3	6,100	4	—	2	9	36	49	—
„ „ 4 „	38,7	29,500	1	1	7	28	59	4	—
„ „ 7 „	38,4	36,000	2	1	4	29	53	11	—
„ „ 24 „	38,4	14,300	1	—	—	2	59	37	1
			Nr. 2.						
Normal	37,5	15,150	3		—	—	65	31	1
Nach Pyrifer 1 Std.	38,3	4,500	5		—	1	34	60	
„ „ 2 „	39,2	7,600	4		1	4	51	40	
„ „ 4 „	38,5	24,800	—	1	4	16	73	5	1
„ „ 7 „	38	16,000	3		2	7	79	9	
„ „ 24 „	38,3	18,000	2		—	—	66	32	

Tabelle 3. Sympathektomierte Katzen.

Zeit	Temperatur °C	Leukocyten	Eosinophilen %	Myelocyten %	Jugend %	Stab %	Segment %	Lymphocyten %	Monocyten %
			Nr. 1.						
Normal	37,8	19,800	7	—	—	3	71	18	1
Nach Pyrifer 1 Std.	38	5,600	14	—	—	4	54	28	—
„ „ 2 „	38,5	8,200	7	—	1	6	71	15	—
„ „ 4 „	38,8	10,700	4	—	—	6	74	16	—
„ „ 7 „	38,6	16,500	7	—	—	2	72	18	1
„ „ 24 „	38,5	12,900	10	—		3	60	26	1
			Nr. 2.						
Normal	38,3	17,000	11	—	—	—	60	27	2
Nach Pyrifer 1 Std.	38,6	6,400	4	—	—	—	49	46	1
„ „ 2 „	39,3	3,400	10	—	—	3	65	22	—
„ „ 4 „	39,2	13,000	5	—	—	1	71	21	2
„ „ 7 „	39	15,000	6	—	—	—	71	22	1
„ „ 24 „	38	12,700	14	—	1	1	59	24	1
			Nr. 3.						
Normal	37,3	17,800	6	—	—	2	62	30	—
Nach Pyrifer 1 Std.	37,9	3,300	5	—		2	16	76	1
„ „ 2 „	38,3	6,400	6	—	—	4	65	25	—
„ „ 4 „	38	7,500	4	—	—	6	74	16	—
„ „ 7 „	37,9	11,300	5	—	—	3	74	18	—
„ „ 24 „	37,5	15,000	6	—	—	1	66	26	1

Das Ausbleiben der Leukocytose und manifesten Leukopenie kann mit dem Fehlen der sympathischen Vasokonstriktorfunktionen und darauffolgenden Verminderung der Verteilungsleukocytose erklärt werden. Das Ausbleiben der Linksverschiebung wird aber wahrscheinlich schon durch

das Fehlen des sympathischen Nervensystems bedingt. Der Begriff der Cannonschen „Notfallfunktion" kann also auch auf die Blutbildung erstreckt werden, in dem Sinne, daß durch sympathicuserregende schädigende Einflüsse auch die Funktion des Knochenmarks gesteigert wird. Unter normalen Verhältnissen spielt das sympathische Nervensystem wahrscheinlich keine wichtige Rolle in der Regulation der Blutzellen, es sind eher hormonale und andere Einflüsse, die auf die Regulation einwirken. Wenn aber dem Knochenmark plötzlich größere Aufgaben gestellt werden, so wird schon die Rolle des sympathischen Nervensystems unentbehrlich.

Zusammenfassung.

An Blutbilder von nach Cannon total sympathektomierten Katzen konnten die auf Vagotonie charakteristischen Veränderungen nicht beobachtet werden. Nach intravenöser Injektion von 50 Millionen abgetöteten Coli-Bazillen ist bei den desympathisierten Katzen die an normalen Katzen auftretende Linksverschiebung und Leukocytose ausgeblieben. Das Ausbleiben der Leukocytose kann mit dem Fehlen der sympathischen Vasokonstriktoren bzw. mit der Verminderung der Verteilungs-Leukocytose erklärt werden. Das Ausbleiben der Linksverschiebung wurde wahrscheinlich durch das Fehlen des sympathischen Nervensystems bedingt. Der Begriff der Cannonschen „Notfallfunktion" kann also auch auf die Blutbildung erstreckt werden, in dem Sinne, daß durch sympathicuserregende schädigende Einflüsse auch die Funktion des Knochenmarks gesteigert wird.

Literatur.

1) Falta, W.: Z. Klin. Med. **74** (1911). — 2) Schilling, V.: Fol. haem. **12** (1911). — 3) Domarus, A.: „Grundriß der inneren Medizin". Berlin 1933. — 4) Hoff, F., u. V. Lindhardt: Z. exper. Med. **63** (1928). — 5) Rosenow: Zitiert nach L. R. Müller: „Lebensnerven und Lebenstriebe" 3. Aufl. Berlin 1931. — 6) Chuji, Muto, u. Takumi Dohi: Trans. Soc. path. jap. **25**, 334 (1935). — 7) Beer, A. G., u. G. Bedacht: Klin. Wschr. **20**, 1048 (1941). — 8) Cannon, W. B., H. F. Newton, E. M. Bright, V. Menkin u. R. M. Moore: Amer. J. Physiol. **89**, 84 (1929). — 9) Klieneberger, C.: „Die Blutmorphologie der Laboratoriumstiere". Leipzig 1927. — 10) Cannon, W. B.: Erg. Physiol. usw. **27**, 380 (1928). — 11) Eppinger, H., u. L. Hess: Samml. kl. Abh. Path. Th. Stoffw., Berlin 1910, H. 9 u. 10.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Péter-Pázmány-Universität Budapest.

Über die Wirkung der Gefäßmittel auf den Kreislauf der Extremität.

Von

Béla von Issekutz junior.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 25. Oktober 1941.)

Seitdem Rein in die Physiologie und Pharmakologie die Methode der unblutigen Durchblutungsmessung eingeführt hat, ist es möglich geworden, die Blutversorgung der Organe jetzt viel physiologischer zu untersuchen. Diese Untersuchungen wurden zum größten Teil an der Arterie oder Vene eines Organs durchgeführt, und daraus wurde auf den Zustand bzw. die Zustandsänderung der Gefäße des betreffenden Organs gefolgert. Dagegen wurde nur in einer kleinen Anzahl von Versuchen die Durchblutung gleichzeitig an der Arterie und Vene eines Organs registriert, obwohl man daraus eine Aufklärung über die Veränderung der Blutfülle (Kapazität) der untersuchten Gefäßgebiete erhalten kann.

Untersuchungen dieser Art haben zuerst Mateeff und Schneider (1) durchgeführt. Sie haben die Wirkung des Histamins an dem Kreislauf der hinteren Extremität des Hundes geprüft und die überraschende Tatsache festgestellt, daß die Durchblutungsänderungen in der Arteria und Vena femoralis überhaupt nicht parallel laufen, sondern eben spiegelbildartig: nehmen diese in der Arterie zu, so nehmen sie in der Vene gleichzeitig ab und umgekehrt. Dadurch wird die Kapazität der hinteren Extremität unter der Histaminwirkung einer wesentlichen, aus mehreren Phasen bestehenden Schwankung ausgesetzt.

Ähnliche Untersuchungen hat auch Springorum (2) unternommen. Er hat die Kapazitätsveränderungen an den zu der Arteria und Vena auricularis gehörigen Hautgefäßgebieten unter der Wirkung von Adrenalin, Acetylcholin und Histamin geprüft. Bei der Adrenalinwirkung sah er zwei verschiedene Reaktionstypen. Bei dem ersten Typ nahm die Durchblutung sowohl in der Arterie als auch in der Vene ab, die beiden Kurven liefen parallel, so daß also in der Kapazität des Gefäßgebietes keine wesentliche Veränderung stattfand.

Der zweite Typ zeigte ein ganz anderes Bild: während die Durchblutung am Anfang in der Arterie abfiel, stieg sie in der Vene an, also laufen die beiden Kurven spiegelbildartig. Die Kapazität der untersuchten

Gefäßgebiete verringerte sich, es wurde nach der Berechnung Springorums 5 ccm Blut abgegeben. Darauf folgte eine zweite Phase: als die Durchblutung in der Arterie das ursprüngliche Niveau erreichte, blieb sie in der Vene noch eine gewisse Zeit vermindert. In dieser Zeit nehmen die Hautblutgefäße die in der ersten Phase abgegebene Blutmenge wieder auf. Unter der Histaminwirkung hat er gleiche Reaktionen erhalten wie Mateeff und Schneider an der hinteren Extremität des Hundes. Kramer und Schäfer (3) registrierten mit Hilfe der Reinschen Methode die durchfließende Blutmenge in der Arteria und Vena femoralis und fanden dabei, daß unter der Adrenalinwirkung zuerst eine Gefäßerweiterung und dann eine Gefäßverengung auftrat. Die beiden Kurven laufen immer parallel, so daß in der Kapazität keine wesentliche Veränderung erfolgt.

Derartige Untersuchungen wurden also bisher hauptsächlich mit Adrenalin und Histamin durchgeführt. Es erschien daher notwendig, diese Verfahren auch auf andere Gefäßmittel auszudehnen. Um so mehr, da aus Mateeffs und Schneiders Ergebnissen klar hervorgeht, daß nur die an der Vene bzw. nur die an der Arterie ermittelten Durchblutungsmessungen nicht immer ein wahrheitsgetreues Bild von der Veränderung der Blutfülle ergeben. Gleichfalls tritt durch ihre Untersuchungen noch eine andere Frage in den Vordergrund. Sie stellten fest, daß unter der Wirkung kleinerer Histamindosen die hintere Extremität des Hundes, dadurch, daß bisher geschlossene Kapillaren neueröffnet werden, während einiger Sekunden ungefähr 16 ccm Blut aus dem Gesamtkreislauf aufzunehmen vermögen. Die Frage ist jetzt, wie beeinflussen andere, auf die Gefäße länger und stärker wirkende Pharmaca, die Blutfülle der Extremität; kann jene Blutmenge, die von der Extremität durch die Verengung der Kapillaren und der kleinen Venen abgegeben bzw. durch die Erweiterung derselben aufgenommen wird, eine wesentliche Größe erreichen?

Methodik.

Die Versuche wurden an 9—15 kg schweren, mit Morphin-Dial (Morphin: 0,003 g/kg, Dial 0,03 g/kg) narkotisierten Hunden durchgeführt. An der Arteria und Vena femoralis der einen Extremität wurde unmittelbar unter dem lingamentum inguinale mit Hilfe der Reinschen Thermostromuhr die Durchblutung registriert. Auf diese Weise war es möglich, die Zustandsänderung der ganzen Extremität (Haut und Muskelgefäße) zu messen und die aufgenommene und abgegebene Blutmenge zu errechnen. Die Blutdruckmessung geschah mittels einer in der Arteria brachialis eingeführten Kanüle. In der Rückenlage angebundene Versuchstiere wurden mit elektrischen Birnen soweit erwärmt, daß die Rectaltemperatur ungefähr 37° C anzeigte. Die Injizierung des angewandten Arzneimittels erfolgte in die Vena jugularis.

I. Die Wirkung der gefäßverengenden Mittel auf den Blutkreislauf der Extremität.

a) Adrenalin.

Aus den Untersuchungen von Rein und Schneider (4) geht hervor, daß unter kleinen, physiologischen Adrenalindosen die Gefäße der ruhenden Extremität verschiedenartig reagieren können. Er hat diese Versuche an der Arteria femoralis des Hundes ausgeführt und dabei festgestellt, daß bei einem 8 kg schweren Tier unter der Wirkung von 5 γ Adrenalin die Durchblutung in der Arteria femoralis zuerst ein wenig steigt, dann fällt und am Ende sehr stark zunimmt. Diese letztere Reaktion fällt nach der Durchschneidung des nervus ischiadicus weg. Daraus konnte geschlossen werden, daß die von Adrenalin bedingte Vasokonstriktion durch eine von den Blutdruckzüglern reflektorisch ausgelöste Dilatation unterbrochen wird. Er hat nach Unterbindung der Hautäste der Arteria femoralis unter Adrenalinwirkung sowohl eine Verengung als auch eine Erweiterung der Muskelgefäße beobachtet. Werden die Tiere aber in einen Raum mit einer Temperatur von 35° C gebracht, so tritt die vasokonstriktorische Wirkung in den Vordergrund: 2 γ/kg Adrenalin ruft immer eine Gefäßverengung hervor, die in eine starke reflektorische Gefäßerweiterung übergeht.

Aus den späteren Untersuchungen von Rein ist zu ersehen, daß das Adrenalin in der Vena femoralis eine viel gleichartigere Reaktion hervorruft als in der Arterie. In der Vene steigt die Durchblutung zuerst, dann folgt immer eine Senkung bis unter das ursprüngliche Niveau.

In den schon erwähnten Versuchen von Springorum zeigen die Durchblutungsänderungen in der Hautvene ein ähnliches Bild. In der Hautarterie (Arteria auricularis) fehlt aber die dilatatorische Phase, so daß anzunehmen ist, daß in der Extremität hauptsächlich die Muskelgefäße in der dilatatorischen Phase beteiligt sind.

Ich untersuchte die Wirkung kleiner, physiologischer Adrenalingaben und beobachtete dabei im ganzen vier verschiedene Reaktionstypen. Außer einer verursachen alle eine starke Kapazitätsänderung der Extremitätgefäße. Nach dem einfachsten Reaktionstyp erhöht 0,2 bzw. 0,5 γ/kg intravenös injiziertes Adrenalin den Blutdruck 10 bzw. 15 mm Hg. Gleichzeitig damit fällt die Durchblutung in der Arteria und Vena femoralis ab, was so zu erklären ist, daß die Arteriolen sich verengten und so der peripherische Widerstand zunahm. Dadurch fließt weniger Blut in die Extremität als ursprünglich, gleichzeitig aber nimmt der Abfluß auch ab, so daß die Blutfülle der Gefäße sich nicht wesentlich verändert. Dieser Typ entspricht der von Springorum an der Arteria und Vena auricularis beschriebenen Reaktion.

Der zweite Typ ähnelt im Wesen dem ersten, der Unterschied besteht nur darin, daß die arteriole Verengung, wie es Rein (4) schon beschrieb, durch eine starke reflektorische Dilatation unterbrochen wird. Eine solche

Reaktion zeigt die erste Abbildung: Es wurde 1 γ/kg Adrenalin gegeben, wonach die Blutdruckerhöhung sehr ausgeprägt war. Während dieser steigert sich der arterielle Zufluß zuerst druckpassiv (bei a), dann erfolgt wegen der ständig steigenden Gefäßverengerung eine Senkung desselben. Als diese ihren Höhepunkt erreicht hat, steigt plötzlich die Durchblutung in erheblichem Maße (bei b), es setzt nämlich eine starke Gefäßerweiterung ein und gleichzeitig fällt der Blutdruck wieder ab. Diese starke Dilatation setzt bald aus (bei c), die Vasokonstriktion tritt wieder in den Vordergrund, die Durchblutung senkt sich unter den Ausgangswert, und nur langsam steigt sie bis zum ursprünglichen Niveau. Auch in der Vena femoralis steigt am Anfang die Durchblutung. Dieser gesteigerte Abfluß kommt jedoch nicht infolge des erhöhten Blutdruckes (druckpassiv) zustande, weil er nämlich auch dann andauert, wenn in der Arterie schon eine Zuflußverminderung eingetreten ist (bei b). Die Ursache desselben besteht wahrscheinlich darin, daß aus den Kapillaren und Blutdepots Blut ausgeschüttet wird. Darauf folgt eine zweite Phase: Der venöse Abfluß senkt sich unter das Ausgangsniveau, was auf die Verengung der kleinen Venulen zurückzuführen ist. Diese Reaktion fällt zeitlich mit der in den Arteriolen reflektorisch einsetzenden Erweiterung zusammen, so daß während dieser Zeit die Extremität aus dem Kreislauf erhebliche Mengen Blut aufnimmt.

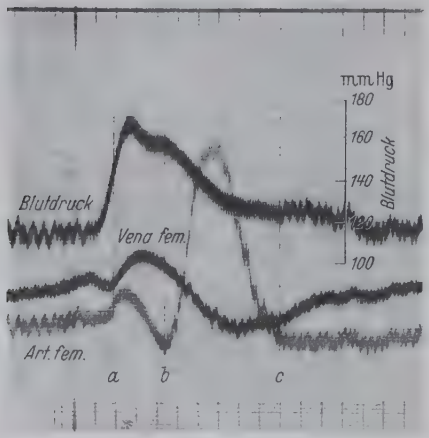


Abb. 1. 27. XI. Hund, 11 kg. Morphin-Dial-Narkose. Bei 1/1,0 γ/kg Adrenalin i. v.

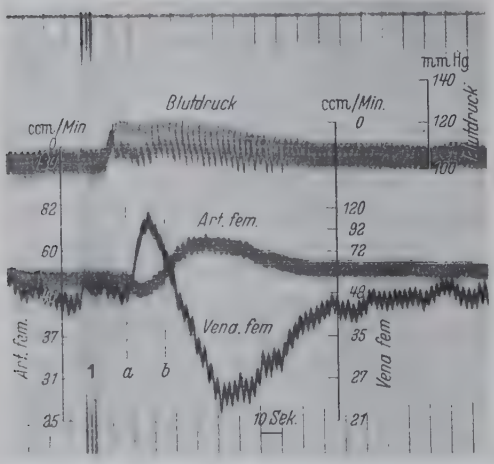


Abb. 2. 14. XI. Hund, 9,7 kg. Morphin-Dial-Narkose. Bei 1 : 0,25 γ/kg Adrenalin i. v.

Der dritte Typ unterscheidet sich wesentlich von den ersten zwei. Die zweite Abbildung zeigt die Wirkung von 0.25 γ/kg Adrenalin. Der Blutdruck erhöht sich um 14 mm Hg. Die Durchblutung vermindert sich zuerst in der Arteria femoralis, also verengen sich die Arteriolen (bei a). Gleichzeitig nimmt der Venenabfluß zu, was hier auch nur so zu erklären ist, das eine gewisse Blutmenge durch die Verengung der Kapillaren und Venulen ausgeschüttet wird, und diese eine kurzandauernde Abflußerhöhung bedingt. Dann folgt eine zweite Phase (bei b): Der Arterienzufluß steigt wahrscheinlich infolge einer reaktiven Hyperämie über das Ausgangsniveau. Die Venulen aber bleiben verengt, so daß dadurch jetzt der venöse Abfluß vermindert wird und sich unter den Ausgangswert senkt.

Die Durchblutungsveränderungen gehen also überhaupt nicht parallel, sondern spiegelbildartig. Die Kapazität der Extremitätsgefäße verändert sich im Laufe der Reaktion erheblich, und zwar nimmt dieselbe in der ersten Phase ungefähr 15 ccm ab, in der zweiten Phase 25 ccm zu. Der endgültige Ausgleich erfolgt so langsam, daß er mit der benutzten Methode nicht meßbar ist.

Eine ähnliche Adrenalinreaktion zeigt auch die Abb. 5, nur daß hier in der ersten Phase die auftretende arteriole Verengung noch ausgeprägter ist.

An der Arteria femoralis wurden dieselben Durchblutungsveränderungen auch von H. Hartmann, Lore L. Orskow und Rein (5) beobachtet.

In dem letzten, am seltensten vorkommenden Reaktionstyp steigert 1 γ/kg Adrenalin den Blutdruck nur in ganz geringem Maße. In der Arteria femoralis nimmt die Durchblutung ein wenig ab, um dann plötzlich wieder anzusteigen; längere Zeit bleibt sie auf diesem höheren Niveau, obwohl der Blutdruck den Ausgangswert schon lange erreichte. Man kann also annehmen, daß die Arteriolen mit einer vorübergehenden Verengung und darauffolgenden starken Erweiterung reagieren. An der Vena femoralis tritt die oben beschriebene Reaktion auf. Der Abfluß steigt am Anfang, um danach erheblich abzufallen. Die Blutfülle der Extremitätsgefäße weist eine bedeutende Zunahme auf, es wurde von der Extremität in einem Falle 60 ccm Blut von dem Blutkreislauf verschluckt. Eine ähnliche, hauptsächlich aus arterioler Erweiterung bestehende Adrenalinreaktion wurde auch von Rein (6) in der über Veritolveröffentlichten Mitteilung beschrieben.

b) Veritol und Pulsoton.

Wie aus vorliegenden Versuchen zu ersehen ist, können die Gefäße der ruhenden Extremität so reagieren, daß dadurch eine wesentliche Kapazitätsänderung zustande kommt. Dabei ergibt sich folgende Frage: Wie beeinflussen Arzneien, die eine länger anhaltende Wirkung als Adrenalin haben, die Gefäße und die Blutfülle der Extremität? Aus diesem Grunde

untersuchte ich zuerst die Wirkung des m-oxyphenylisopropylamin (Pulsoton). Dieser Stoff hat, wie es aus meiner früheren Mitteilung (7) hervorgeht, im Wesen eine ähnliche Wirkung, wie das von Rein (6) und anderen ausführlich untersuchte m-oxyphenylisopropylmethylamin (Veritol).

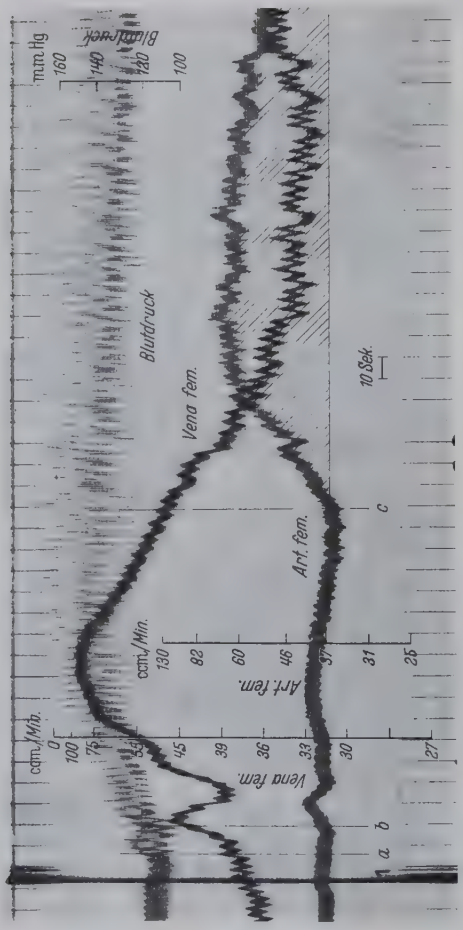


Abb. 3. 14. XI. Hund, 9,7 kg. Morphin-Dial-Narkose. Bei 1 : 0,2 mg/kg Pulsoton i. v.

Auch in diesen Versuchen reagierten bei gleicher Blutdruckerhöhung die Extremitätsgefäße ganz verschieden, ebenso wie es bei Adrenalin der Fall war.

Häufig kann beobachtet werden, daß gleichzeitig mit der Blutdruckerhöhung, sowohl in der Arterie als auch in der Vena femoralis die Durchblutung abnimmt, ähnlich wie es bei dem ersten Reaktionstyp des Adrenalins zu sehen war. Die jetzt der Extremität zu- und abfließende Blutmenge ist ungefähr in demselben Maße kleiner als sie ursprünglich war, es erfolgt also in der Kapazität der Blutgefäße keine wesentliche Veränderung.

Sehr oft laufen aber die Durchblutungsveränderungen in den zwei Hauptgefäßen nicht parallel, sondern eher spiegelbildartig, was erhebliche Veränderungen in der Blutfülle der Extremität zur Folge hat. Abb. 3 gibt solch eine Reaktion wieder. Unter der Wirkung von 0,2 mg/kg m-oxyphenylisopropylamin (Pulsoton) erhöht sich der Blutdruck von 120 mm Hg auf 160 mm Hg und bleibt längere Zeit auf dieser Höhe. Auffallend ist, daß, bevor noch die Blutdrucksteigerung ihren Anfang nimmt, sich die Druckamplitude erhöht (bei a). In den ersten 2—3 Minuten verändert sich die Durchblutung in der Arteria femoralis nicht erheblich. Gleichzeitig mit der Blutdruckerhöhung erfolgt eine kleine, offensichtlich druckpassive

Zunahme (bei b), die bald zum Ausgangswert zurückkehrt, obwohl der Blutdruck jetzt um 40 mm Hg höher ist und auch längere Zeit so hoch bleibt. Dieses ist so zu erklären, daß die kleinen Arteriolen sich mäßig verengten und, obwohl dadurch der peripherische Widerstand zunahm, vermag der erhöhte Druck merkwürdigerweise die normale Durchblutung aufrechtzuerhalten.

Steigt die Durchblutung in der Vena femoralis stark an, so kann diese Steigerung selbstverständlich nicht druckpassiv sein, da sonst in der Arteria femoralis auch eine Durchblutungszunahme erfolgen müßte; andererseits nimmt diese Abflußsteigerung ihren Anfang früher als die Blutdruckerhöhung. Diese Reaktion kann folgendermaßen gedeutet werden: aus den Kapillaren, Venulen und subpapillaren Blutdepots der Extremität wird Blut ausgeschüttet und erhöht so die kreisende Blutmenge. Dadurch wird auch das Pulsvolumen früher erhöht, ehe noch die Blutdrucksteigerung eingetreten ist.

Nun folgt eine zweite Phase (bei c). Der Blutdruck bleibt weiterhin gesteigert, die Blutströmung jedoch beginnt in der Arterie zuzunehmen, d. h. die am Anfang verengten Arteriolen erweitern sich wieder und der erhöhte Druck kann jetzt mehr Blut durchtreiben. Während dieser Zeit fällt der venöse Abfluß unter das Ausgangsniveau, um danach langsam ansteigend den ursprünglichen Wert zu erreichen. Die in dem venösen Blutstrom eingetretenen Veränderungen lassen sich folgendermaßen erklären: nachdem durch die Verengung der Venulen eine erhebliche Menge Blut ausgeschüttelt wurde, verhindert dieselbe jetzt den Abfluß, deshalb nimmt der Blutstrom in der Vene ab. Während also in der ersten Phase neben erhöhtem venösem Abfluß der arterielle Zufluß beinahe normal bleibt, nimmt in der zweiten Phase die Durchblutung in der Vene gleichzeitig mit der Steigerung des arteriellen Zuflusses ab. Die Kapazität der Extremitätsgefäße verringert sich anfangs erheblich, in diesem Falle 67 ccm, um danach in ebenso erheblichem Maße, hier etwa 77 ccm zuzunehmen. Die ganze Reaktion ist sehr ähnlich dem bei Adrenalin beschriebenen dritten Reaktionstyp.

Die Abb. 4 zeigt eine Reaktion, die an den vierten Reaktionstyp des Adrenalins erinnert. Das Versuchstier bekam 0,3 mg/kg Veritol i. v. Der Blutdruck steigert sich von 110 mm Hg auf 170 mm Hg. Die Durchblutung nimmt zuerst ein wenig zu (bei a), und als die Blutdrucksteigerung einsetzt, fällt sie ab (bei b). In einigen Sekunden aber steigt diese Durchblutungsabnahme in eine starke Durchblutungszunahme (bei c), und bleibt bestehen, solange der Blutdruck erhöht ist.

Dieser Vorgang, der sonst den von Rein an der Arteria femoralis beobachteten Veränderungen entspricht, ist so zu erklären, daß die Gefäße gleichzeitig mit der Einsetzung der Blutdruckerhöhung infolge eines Depressorreflexes sich erweitern, so daß jetzt das Ansteigen des Blut-

druckes aussetzt, hierauf eine Konstriktion (bei b) folgt und der Blutdruck wieder zu steigen beginnt. Diese Drosselung dauert aber nur kurze Zeit

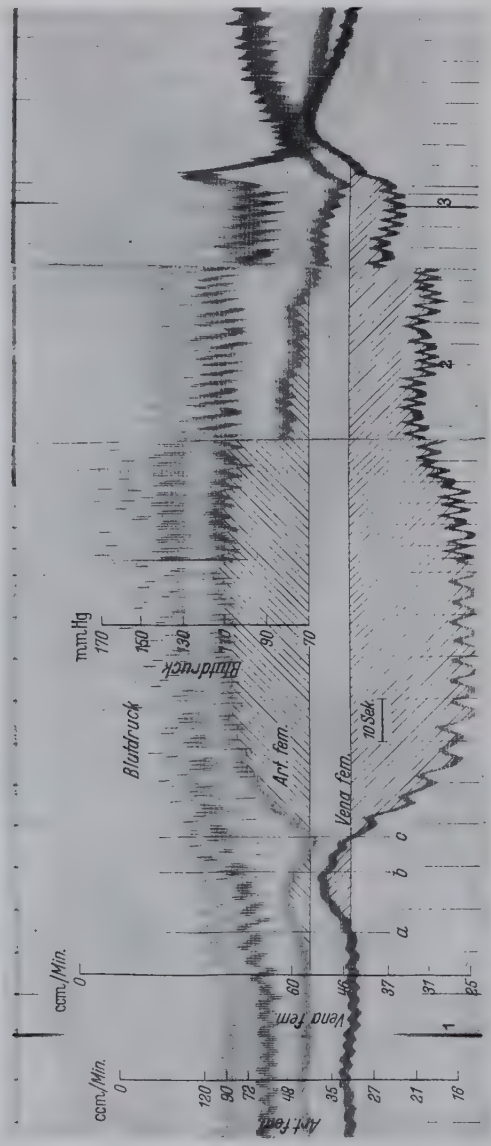


Abb. 4. 29. XI. Hund, 9 kg. Morphin-Dial-Narkose. Bei 1: 0,3 mg/kg Veritol i. v.
Bei 2: 14 Minuten später.
Bei 3: 2 mg/kg Atropin.

an, dann wird infolge des erhöhten Druckes die Durchblutung um 90% in der Arterie erhöht.

An der Vena femoralis beobachtete Veränderungen entsprechen ebenso der von Rein beschriebenen Reaktion. Die venöse Durchblutung nimmt anfangs zu, und läuft parallel mit der arteriellen (bei a), was eine Folge des Depressorreflexes ist. Bei c setzt eine starke und langandauernde Durchblutungsabnahme ein, die den Ausgangswert nur langsam erreicht. Unsere Deutung könnte folgendermaßen sein: In dieser Phase verengten sich die kleinen Venen viel stärker als die kleinen Arteriolen. Die Kapazität der Extremitätsgefäße nimmt in erheblichem Maße zu, da während der ganzen Veritolwirkung mehr Blut zu- als abfließt, in dem mitgeteilten Falle macht diese Zunahme 97 ccm aus.

Aus diesen Versuchen ist zu ersehen, daß sowohl durch Veritol, als auch durch Pulsoton die Blutgefäße der Extremität verschiedenartig beeinflußt werden können. Im allgemeinen kann man sagen, daß die Extremitätsgefäße auf diese Pharmaka ähnlich reagieren, wie auf kleine Dosen von (0,5—1 γ/kg) Adrenalin.

c) Nikotin.

Aus den Untersuchungen von Traube (8) ist bekannt, daß das Nikotin erst eine Blutdrucksenkung mit gleichzeitiger Pulsverlangsamung verursacht, danach aber eine Blutdrucksteigerung mit Pulsfrequenzerhöhung auftritt.

Nach den Angaben von Langley und Dickenson (9), Wertheimer und Colas (10), Hamet (11), Vernoni (12), Mansfeld (13) u. a. bestand die allgemeine Auffassung, daß die blutdrucksteigernde Wirkung des Nikotins teilweise auf einer direkten gefäßverengernden, teilweise aber auf der Adrenalin mobilisierenden Wirkung beruht. Neuerdings kam Gotsev (14) auf Grund onkographischer und plethysmographischer Untersuchungen zu der Schlußfolgerung, daß die unter der Wirkung des Nikotins auftretende Blutdruckerhöhung nicht infolge der Gefäßverengung, sondern der gesteigerten Herztätigkeit zustande kommt. Er sah unter der Wirkung intravenös verabreichten Nikotins immer eine Volumenzunahme an der hinteren Extremität des Hundes.

Abb. 5 zeigt die Wirkung von 0,2 mg/kg Nikotin i. v. auf den Kreislauf der hinteren Extremität. Der Blutdruck senkt sich innerhalb 3—4 Sekunden nach der Injektion, um danach plötzlich in eine Steigerung überzugehen, und erreicht ein Niveau von 40 mm Hg über dem Ausgangswert. Er bleibt ungefähr eine Minute in dieser Höhe, kehrt aber langsam dann zum Ausgangswert zurück. Die arterielle Durchblutung nimmt gleichzeitig mit der Blutdrucksenkung, offensichtlich druckpassiv (bei a), ab. Daraus folgt, daß die Ursache der Blutdrucksenkung, nicht die Erweiterung der Extremitätsgefäße, sondern wie es Traube schon beschrieb, die in dem ersten Moment auftretende Pulsverlangsamung ist. Als der Blutdruck zu steigen begann, steigt ebenfalls die arterielle Durchblutung druckpassiv (bei b),

solange bis der Ausgangswert wieder erreicht ist. Obwohl der Blutdruck weit über seine Ausgangshöhe gestiegen ist, geht die Durchblutung in der

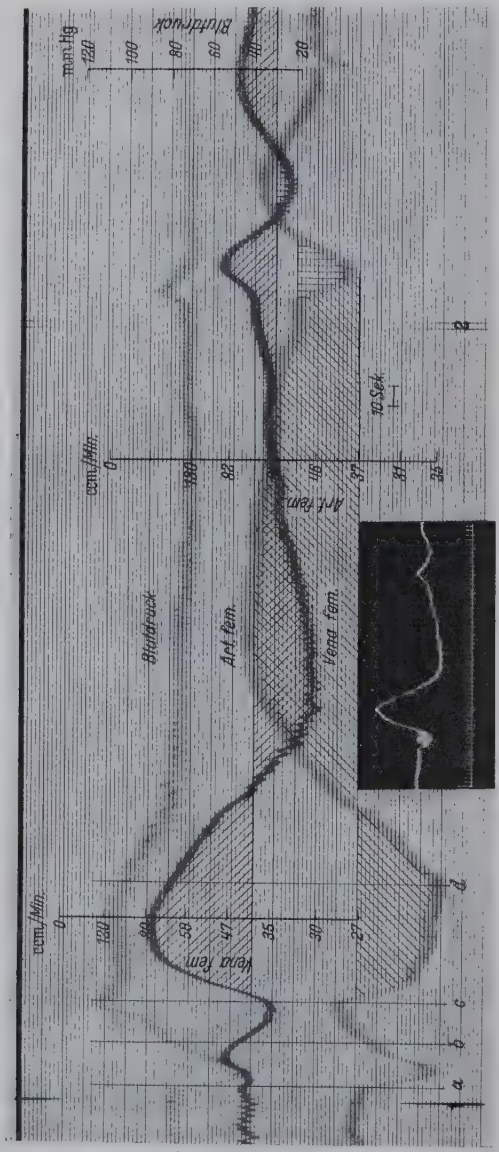


Abb. 5. 20. II. Hund, 16 kg. Morphin-Dial-Narkose. Bei 1: 0.2 mg/kg Nikotin i. v. Bei 2: 0.3 γ/kg Adrenalin i. v. Kleinbild: Plethysmographkurve der anderen Extremität.

Arterie kaum über ihr ursprüngliches Niveau hinaus, woraus auf eine gemäßigte arteriole Verengung geschlossen werden kann.

In der Vena femoralis nimmt die Durchblutung anfangs zu, dann zeigt sich während der Steigerung des Blutdruckes eine ausgeprägte Senkung, d. h. die Venulen verengten sich und dadurch wurde der Blutabfluß vermindert (bei b). Nun tritt eine plötzliche Veränderung des Bildes ein. Zuerst fällt der arterielle Zufluß stark ab (bei c), um ungefähr nach einer Minute wieder anzusteigen (bei d). Damit senkt sich der Blutdruck gleichzeitig und erreicht in Kürze den Ausgangswert. In der Arterie folgt jetzt eine langandauernde, stark erhöhte Durchblutung, die nur langsam zu ihrem Ausgangsniveau zurückkehrt.

Die venöse Durchblutung läuft nicht parallel mit der arteriellen sondern eher spiegelbildartig. Während sie in der Arterie abnimmt, steigt sie in der Vene (bei *c*) wesentlich an und als sie in der Arterie über das Ausgangsniveau geht, senkt sie sich in der Vene unter dasselbe (bei d). Diese Veränderungen sind so zu deuten, daß eine arterielle Konstriktion einsetzt und gleichzeitig damit die Kapillaren und Venulen sich verengten, die eine erhebliche Blutausschüttung verursachten und dadurch der venöse Abfluß stieg. Die arterielle Konstruktion setzt in der nächsten Phase aus und eine starke langandauernde Hyperämie tritt auf. Während dieser Zeit vermindert die noch immer bestehende Venulenverengung die Durchblutung der Vena femoralis. In der ersten Phase nahm die Kapazität der Extremität erheblich ab, in der zweiten Phase dagegen zu. In dem abgebildeten Fall beträgt diese Abnahme 39 ccm, die Zunahme etwa 106 ccm.

Das ganze Bild gleicht sehr dem, bei dem Adrenalin dritten Reaktionstyps. Das nach dem Ablauf der Nikotinwirkung gegebene Adrenalin, wie es aus der Abbildung ersichtlich ist, ruft ganz ähnliche Veränderungen hervor, nur mit dem Unterschied, daß diese Veränderungen hier viel kleinere Ausmaße erreichen, als im Falle des Nikotins. Diese Ähnlichkeit läßt sich leicht erklären, wenn man in Betracht zieht, in welchem Maße das Nikotin das Adrenalin zu mobilisieren vermag.

An der anderen hinteren Extremität parallel durchgeführte plethysmographische Untersuchungen ergaben das Resultat, daß auch schon von Gotsev beschrieben wurde, nämlich, daß das Volumen der Extremität zuerst stark zunimmt und dann ein wenig abnimmt. Daraus schloß er, daß unter der Nikotinwirkung die Extremitätsgefäße sich nicht verengten. Die Ursache des Gegensatzes der in den von dem Plethysmographen gezeigten Volumenveränderungen und von der Thermostromuhr gemessenen Kapazitätsveränderungen besteht, ist noch unbekannt und erfordert weitere systematische Untersuchungen.

Die Wirkung des Nikotins zeigt übrigens nicht immer das gleiche Bild. Manchmal steigt die Durchblutung in der Arterie gleich nach der Injektion, also tritt keine arteriole Verengung ein, in der Vene dagegen nimmt sie nach einer anfänglichen Zunahme ab, so daß auch hier auf eine venule Verengung geschlossen werden kann.

Alle bisherigen Untersuchungen zusammenfassend, kann festgestellt werden, daß die auf den Kreislauf stark und anhaltend wirkenden Pharmaka sehr große Veränderungen in der Blutfülle der Extremität hervorrufen können. Durch die Zusammenziehung der Kapillaren, der kleinen Venen sowie der Blutreserven der Unterhautgewebe kann in den Kreislauf eine Menge Blut geworfen werden, dadurch verringert sich die Kapazität der Gefäße wesentlich. Andererseits kann die Durchblutung in der Vena femoralis teilweise infolge arterioler Erweiterung, teilweise aber auch infolge des erhöhten Blutdruckes ansteigen, wenn gleichzeitig damit der venöse Abfluß durch die Konstriktion der Venulen gehindert ist, nimmt die Blutfülle der Extremität erheblich zu.

II. Die Wirkung der gefäßerweiternden Mittel auf den Kreislauf der Extremität.

a) Acetylcholin.

Unter der Wirkung von 5 γ/kg Acetylcholin i. v. senkt sich der Blutdruck plötzlich um 30 mm Hg. Die Durchblutung in der Arteria femoralis steigt, was eine Verminderung des peripherischen Widerstandes bedeutet. Die Blutdrucksenkung wurde aber nicht von der peripherischen Dilatation ausgelöst, weil es deutlich zu erkennen ist, daß sie vor der Durchblutungszunahme einsetzt. Zuerst senkt sich sogar häufig die arterielle Durchblutung druckpassiv und dann beginnt sie zu steigen. Mit dieser Zunahme tritt gleichzeitig in der Vene eine Durchblutungsabnahme auf, d. h. es fließt der Extremität jetzt mehr Blut zu als ab. Es erfolgt also eine Kapazitätserhöhung der Gefäße. Diese ist so zu erklären, wie es von Mateeff und Schneider im Falle des Histamins angenommen wurde, daß nämlich auch hier neue, bisher geschlossene Kapillaren eröffnet werden und diese das Blut aufnehmen. Nun folgt eine zweite Phase. In der Arterie setzt eine Durchblutungsabnahme, in der Vene eine Zunahme ein. Danach kann manchmal auch eine dritte Phase folgen, und zwar, wenn die arterielle Durchblutung über den Ausgangswert steigt, die venöse sich aber unter denselben senkt. Der Blutdruck senkt sich dann meistens einige mm Hg.

Die Extremitätsgefäße reagieren also im Wesen ähnlich wie auf Histamin. Zuerst tritt eine Neueröffnung der Kapillaren auf; die Blutfülle der Extremität nimmt zu, dann verengen sie sich wieder, wahrscheinlich reflektorisch, so daß die Kapazität abnimmt.

b) Nitroglycerin.

Abb. 6 zeigt die Wirkung von 0,05 mg/kg Nitroglycerin. Der Blutdruck senkt sich von 110 mm Hg auf 90 mm Hg. In der Arteria femoralis setzt eine Durchblutungszunahme ein (bei a), da der peripherische Wider-

stand sich verminderte, d. h. die Gefäße erweiterten sich. Im Gegensatz dazu nimmt die venöse Durchblutung ab. Auch dieser Vorgang läßt sich hier wieder so erklären, daß neue bisher geschlossene Kapillaren sich eröffneten und das zufließende Blut sie auffüllen muß. Darauf folgt eine zweite Phase (bei b), die arterielle Durchblutung nimmt ein wenig ab, die venöse ein wenig zu, bald aber tritt eine dritte Phase ein (von c—d), so daß jetzt die Durchblutungsänderungen in beiden Gefäßen eine ähnliche Richtung aufnehmen wie in der ersten Phase. Während dieser ganzen Reaktion bleibt der Blutdruck unverändert, und zwar auf dem durch Nitroglycerin hervorgerufenen niedrigen Niveau.

Also lassen sich auch hier die einzelnen Phasen gut voneinander unterscheiden, obwohl sie nicht so ausgeprägt sind wie beim Histamin.

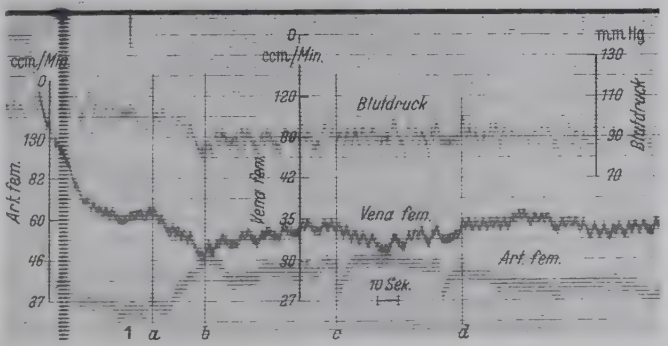


Abb. 6. 20. II. Hund, 16 kg. Morphin-Dial-Narkose. Bei 1: 0,05 mg/kg Nitroglycerin i. v.

Die Ursache desselben beruht wahrscheinlich darauf, daß die Wirkung des Histamins kürzer andauert, und so die Gegenregulation ungehindert zur Geltung kommen kann, demgegenüber vermindert die langanhaltende Wirkung des Nitroglycerins die reflektorischen Durchblutungsveränderungen. Die Extremität nimmt also während des ganzen Verlaufs der Reaktion aus dem Kreislauf Blut auf. Diese Blutmenge beträgt in diesem Falle 26 ccm.

c) Adenylsäure.

Adenylsäure bewirkt ebenfalls eine langdauernde Blutdrucksenkung. Die arterielle Durchblutung steigt, die venöse dagegen fällt. Die Kapazität der Extremitätsgefäße nimmt zu. Darauf folgt eine kaum angedeutete zweite Phase, in der sich der arterielle Zufluß senkt, der venöse Abfluß aber steigt. Schließlich zeigt die Durchblutung in der dritten Phase in der Arterie eine kleine Erhöhung, in der Vene eine starke Verminderung. Die einzelnen Phasen sind hier noch schwerer zu erkennen, da die starke gefäßerweiternde Wirkung die gegenregulatorischen Veränderungen sehr ab-

dämpft. Die Blutfülle der Extremität steigt unter der Wirkung von Adenylsäure und nimmt manchmal 55 ccm Blut aus dem Kreislauf auf.

Auf Grund dieser Versuche kann darauf geschlossen werden, daß die Extremitätsgefäße unter der Wirkung von Acetylcholin, Nitroglycerin und Adenylsäure im Wesen gleichartig reagieren und daß diese Reaktion sich im Prinzip kaum von der durch Mateeff und Schneider beschriebenen Histaminreaktion unterscheidet.

d) Atropin.

Es gibt Pharmaka, die gefäßerweiternd wirken, jedoch läuft die hervorgerufene Dilatation ganz anders ab. Die Abb. 4 stellt die Wirkung von 2 mg kg Atropin dar. Der Blutdruck senkt sich und gleichzeitig damit nimmt die Durchblutung sowohl in der Arterie als auch in der Vene, vollständig parallel laufend, zu (bei e). Die Kapazität der Extremitätsgefäße verändert sich nicht. Dieser Reaktionstyp ist so zu deuten, wie das von Mateeff und Schneider auseinandergesetzt wurde, daß die dilatatorische Wirkung sich auf die Gebiete des größten Widerstandes, nämlich auf die kleinen Arteriolen erstreckt, ohne den Zustand der Kapillaren zu verändern. So nimmt der peripherische Widerstand ab, die Kapazität der Gefäße bleibt unverändert, da eine in der Arterie auftretende Durchblutungszunahme mit einer kleinen Verspätung auch in der Vene erfolgt.

Besprechung.

Aus den vorliegenden Untersuchungen geht hervor, daß unter der Wirkung der Gefäßmittel die arterielle und venöse Durchblutung sehr häufig sich in entgegengesetzter Richtung verändert. An mehreren Kurven kann eine arterielle Durchblutungsverminderung und gleichzeitig damit eine venöse Abflußzunahme festgestellt werden, oder umgekehrt, während in der Arterie eine Durchblutungserhöhung eintritt, erfolgt in der Vene eine Senkung derselben. Solche entgegengesetzten Veränderungen bewirken selbstverständlich eine große Abnahme bzw. Zunahme der Blutfülle der Extremitätsgefäße. Die Kapazitätsveränderungen können nach unseren Messungen 60, 80 oder 100 ccm betragen.

Zwar wirft Kramer (3) die Idee auf, daß in den Versuchen von Mateeff und Schneider die spiegelbildlichen Durchblutungsverläufe in der Arteria und Vena femoralis nach Histamininjektionen durch die Fehlanzeige des an der Arteria femoralis angelegten Thermoelementes bedingt sind. Dieser Einwand trifft aber nur für die Arteria femoralis größerer Hunde zu, während Messungen an kleineren Hunden nach seinen Erfahrungen zuverlässig sind. Als Kramer (15) mit seiner eigenen photoelektrischen Methode an der Arteria femoralis eines 16 kg schweren Hundes die Zuverlässigkeit der Reinschen Thermostromuhr kontrollierte, erfuhr er nach der Darreichung von Gefäßkonstriktoren eine höchstens 10%ige Ab

weichung zwischen den beiden Registrierungsmethoden. Es ist wohl wahr, daß nach Gefäßdilatatoren diese Differenz auch 30% erreichen kann, jedoch wurden entgegengesetzte Durchblutungsveränderungen mit den beiden Methoden nie registriert. Die Kramerschen Kontrolluntersuchungen können also höchstens die quantitative Auswertung der registrierten Kurven in Frage stellen, dagegen aber kann keineswegs fraglich sein, was nach unserer Meinung das Wesen der vorliegenden Untersuchungen ist, daß nämlich die Durchblutungen in der Arteria und Vena femoralis sich in entgegengesetzter Weise verändern und so die registrierten Kurven häufig spiegelbildartig laufen.

Kramer selbst zweifelt an der Zuverlässigkeit der Registrierung der Durchblutung nur an der Arteria femoralis größerer Hunde, aus diesem Grunde arbeiteten wir nur mit Hunden unter 15 kg. Springorum, der die Durchblutungsänderungen an der Arteria und Vena auricularis registrierte, beobachtete an diesen ganz kleinen Gefäßen sowohl unter Histamin, als auch unter Adrenalinwirkung, einen ebenso spiegelbildlichen Verlauf, wie ihn auch Mateeff und Schneider nach Histamin an der Arteria und Vena femoralis sahen. Diese spiegelbildartige Veränderung kann durch Ergotamin aufgehoben werden, so daß von nun an die Kurven der Arterie und Vene parallel verlaufen. Schon allein diese Feststellung besagt, daß der anfängliche Kurvenverlauf nicht durch die Fehlanzeige des Thermoelementes bedingt ist. Die gleiche Beweiskraft hat die Abb. 4, in der sich unter der Wirkung von Veritol der arterielle Zufluß und der venöse Abfluß in entgegengesetzter Richtung veränderten, im Gegensatz dazu bewirkt das nachher verabreichte Atropin unter der Senkung des Blutdruckes einen parallelen Kurvenverlauf.

Aus all diesen Gründen kann kein Zweifel bestehen, daß die Registrierung der Durchblutung der Arteria femoralis qualitativ richtig ist und so in der Kapazität der Gefäße viel größere Veränderungen möglich sind, als diese von den plethysmographischen Kurven gezeigt wurden.

Vergleicht man die mit den verschiedenen gefäßverengernden Mitteln erhaltenen Versuchsergebnisse, so fällt es auf, daß das Adrenalin, Veritol und sogar auch Nikotin bei entsprechender Dosierung im Wesen den Extremitätskreislauf ähnlich beeinflussen. Am gleichen Tier konnte man unter der Wirkung von 0.5 γ kg Adrenalin denselben Reaktionstyp, nur selbstverständlich in kleinerem Ausmaße beobachten, als nach 0.2 mg/kg Veritol oder Pulsoton. Andererseits, wenn wir diese Pharmaka nicht an ein und demselben Tier vergleichen, kann man sehr verschiedene Wirkungen erhalten. Selbst das Adrenalin vermag die Extremitätsgefäße sehr verschieden zu beeinflussen. Der Grund dieser verschiedenen Reaktionsabläufe ist wahrscheinlich darin zu suchen, daß die Gefäße und Blutdepots der Extremität im Augenblick der Darreichung des Pharmakons, obwohl die Versuchsbedingungen in allen Fällen gleich sind, sich nicht in demselben Zustande befinden. Sind die Blutdepots leer, wenige Kapillaren

geöffnet, bedingt das Pharmakon, sei es Adrenalin oder Pulsoton, eine Durchblutungsverminderung der Arterie und eine parallellaufende Abflußverminderung in der Vene, d. h. also: die Arteriolen und Venulen verengen sich zu gleicher Zeit. Enthält die Extremität aber eine erhebliche Menge Blut, sind viele Kapillaren geöffnet, so schüttelt das injizierte gefäßverengende Mittel diese Blutmenge aus, also steigt der venöse Abfluß und gleichzeitig damit fällt infolge der arteriolen Konstriktion der arterielle Durchfluß ab. Die arteriole Verengung setzt meistens früher aus als die Venule, sie geht sogar in eine Erweiterung über. Es tritt nun eine Mehrdurchblutung in der Arterie auf, der venöse Abfluß dagegen bleibt vermindert, solange die Venulenkonstriktion besteht, es fließt also der Extremität mehr Blut zu als ab, so daß sie Blut aus dem Kreislauf aufnimmt.

Manchmal ist es der Fall, daß die Arteriolen sich überhaupt nicht verengern, sondern sich aktiv oder druckpassiv erweitern, d. h. die Durchblutung steigt in der Arteria femoralis von Anfang an. Aber auch hier verengen sich die Venulen, ist dann in den Blutdepots viel Blut vorhanden, steigt gleichzeitig in der Arterie und Vena femoralis die Durchblutung an, dann erfolgt in der Vene eine Verminderung derselben unter das normale Niveau. Sind die Depots aber leer, tritt in der Vene ein verminderter Abfluß auf. Während dieser Zeit kann die Extremität erhebliche Mengen Blut aufnehmen. Reagierten die Extremitätsgefäße auf Adrenalin in dieser Weise, so werden sie auch die gleichen Veränderungen unter der Wirkung von Veritol und Pulsoton aufweisen: also besteht in der Wirkung kein qualitativer Unterschied. Dieses eigentümliche Verhalten der Extremitätsgefäße kann auch noch eine andere Frage klarlegen.

Es ist bekannt, daß die kreisende Blutmenge unter der Wirkung von Adrenalin in großem Maße zunimmt. Ähnliche Untersuchungen, die mit Veritol durchgeführt wurden, ergaben aber sehr widersprechende Resultate. Während Zipf (16) am Hunde eine Zunahme der kreisenden Blutmenge feststellte, beobachteten Ott (17) und Mosco (18) am Menschen in allen Fällen eine Abnahme. Sazawsky (19), Schöndorf (20) und Dieckhoff (21) eine Zunahme, Schneider und Kopp (22) sogar in einzelnen Fällen Abnahme, in anderen Zunahme derselben.

Diese widersprechenden Ergebnisse können leicht erklärt werden, wenn wir in Betracht ziehen, daß die Extremitätsgefäße eine erhebliche Blutmenge aufzunehmen vermögen. Aus den Untersuchungen von Barcroft wissen wir, daß unter Adrenalinwirkung die zwei großen Blutdepots, Milz und Leber, fast vollständig entleert werden. Demgegenüber, wie wir es gesehen haben, verändert sich unter der sehr kurz, nur 1—2 Minuten andauernden Adrenalinwirkung, die Kapazität der Extremitätsgefäße in nicht wesentlichem Maße. In der ersten Phase, als der Blutdruck steigt, werden gleichfalls auch die Blutreserven der Extremität entleert, so daß auch dieses ein Beitrag zur Erhöhung der kreisenden Blutmenge bedeutet.

In der zweiten Phase, in der der Blutdruck auf das ursprüngliche Niveau zurückging, erfolgt eine Wiederauffüllung der Extremitätsgefäße, aber diese Wiederauffüllung ist infolge des kurzen Andauerns der Wirkung nicht imstande, die kreisende Blutmenge zu vermindern.

Ganz anders liegt der Fall bei Veritol und Pulsoton. Die Blutdepots, Milz und Leber, werden auch hierbei entleert und wenn in dem Blutgehalt der Extremitäten keine wesentliche Veränderung stattfindet, so kann die kreisende Blutmenge in erheblichem Maße zunehmen. Oft aber verändert sich die Kapazität der Extremitätsgefäße unter der Wirkung des Veritols bedeutend: in der ersten Phase wird aus den Blutreserven und Kapillaren der Extremität Blut ausgepreßt, so daß es samt dem aus der Milz und Leber ausgeschütteten Blut die kreisende Blutmenge noch weiter vermehrt. Obwohl der Blutdruck weiterhin erhöht bleibt, fließt in der zweiten Phase infolge der venulen Verengung aus der Extremität weniger Blut ab als durch die jetzt schon erweiterten Arteriolen zuströmt, d. h. die Extremität nimmt Blut auf. Dieser Zustand dauert mehrere 10—20 Minuten an, so daß die aufgenommene Blutmenge viel mehr betragen kann, als in der kurz andauernden zweiten Phase der Adrenalinwirkung. Die so verschluckte Blutmenge könnte nach unseren Messungen so bedeutend sein, daß dadurch eine Verminderung der kreisenden Blutmenge eintreten kann.

Auf diese Weise läßt sich durch das eigentümliche Verhalten der Haut- und Muskelgefäße die in einzelnen Fällen auftretende Abnahme, oder in anderen Fällen Zunahme der kreisenden Blutmenge unter der Wirkung des Veritols erklären. Die bei den Messungen der zirkulierenden Blutmenge erhaltenen Werte sind wahrscheinlich abhängig von dem Typ, nach dem die Haut und Muskelgefäße reagieren bzw. ob in dem Moment der Messung die Reaktion der Extremitätsgefäße sich in der ersten oder zweiten Phase befindet?

Zusammenfassung.

Es wurde bei Hunden gleichzeitig an der Arteria und Vena femoralis mit Hilfe der Reinschen Thermostromuhr die Durchblutung gemessen.

Untersuchungen mit Adrenalin, Veritol, Pulsoton, Nikotin, Acetylcholin, Nitroglycerin und Adenylsäure wurden durchgeführt.

Die Versuche mit Adrenalin ergaben, daß die Extremitätsgefäße nach vier verschiedenen Typen reagieren können.

In drei Fällen von diesen Typen laufen die Durchblutungsänderungen in der Arteria und Vena femoralis nicht parallel, sondern eher spiegelbildartig. Das Adrenalin ruft also eine größere oder kleinere Kapazitätsänderung der Extremität hervor.

Die Durchblutungsänderungen durch Pulsoton, Veritol und Nikotin unterscheiden sich qualitativ nicht von der Adrenalinwirkung, die am gleichen Tier mit kleiner Adrenalindosis hervorgerufen wurde.

Bei Anwendung dieser Pharmaka konnte man infolge der langandauernden Wirkung eine sehr starke Kapazitätsänderung bis zu 100 ccm beobachten. Diese Kapazitätsänderungen bestehen aus zwei Phasen, in der ersten entleeren sich die Blutdepots und die Blutfülle der Gefäße nimmt ab, in der zweiten werden sie wieder aufgefüllt und die Extremität nimmt mehr Blut auf als in der ersten Phase ausgeschüttelt wurde.

Acetylcholin, Adenylsäure und Nitroglycerin erweitern die Kapillaren und eröffnen neue, bisher geschlossene und bedingen dadurch eine Kapazitätszunahme der Extremität.

Literatur.

1) Mateeff, D., u. M. Schneider: Pflügers Arch. **236**, S. 606. — 2) Springorum, W.: Ebenda **238**, S. 353. — 3) Kramer, K., u. Karl Ernst Schäfer: S.ber. Heidelbg. Akad. Wiss., Math.-naturw. Kl., Jahrg. 1939, 5. Abhandlung. — 4) Rein, H., u. M. Schneider: Z. f. Biol. **91**, S. 13. — 5) Hartmann, H., Lore L. Orskow u. H. Rein: Pflügers Arch. **238**, S. 239. — 6) Rein, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**. 7) v. Issekutz, B. jr.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **192**, S. 412. — 8) Traube: Gesammelte Beitr. Path. u. Phys. **1**, 303 (1862). — 9) Langley u. Dickenson: J. Physiol. (Brit.) **11**, 265 (1890). — 10) Wertheimer, E., u. Et. Colas: Arch. physiol. **23**, 341 (1891). — 11) Hamet, R.: C. r. des Séances de la Soc. de biol. **93**, 1274 (1925). — 12) Vernoni, G.: Arch. di Fisiol. **23**, Heft 2, 209 (1925). — 13) Mansfeld, G.: Orvosi Hetilap **52**, S. 241. — 14) Gotsev, T.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, S. 1. — 15) Kramer, K.: Pflügers Arch. **238**, S. 91. — 16) Zipf, K.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, S. 679. — 17) Ott, A.: Klin. Wschr. **I**, 993 (1939). — 18) Mosco, D.: Ebenda I, 596 (1941). — 19) Sazawsky, K.: Med. Klin. **1938**, S. 280. — 20) Schöndorff, T.: Münch. med. Wschr. **1938**, I, S. 333. — 21) Dieckhoff, J.: Klin. Wschr. **1937**, II, S. 1154. — 22) Schneider, H,, u. Kopp: Klin. Wschr. **1937**, II, S. 1672.

Aus dem Pharmakologischen Laboratorium der Kaštel A.-G., Zagreb, Kroatien.

Über die pharmakologische Untersuchung von 4-Dimethylamino-1-phenyl-piperidin und verwandten Verbindungen.

Von

Pavao Stern.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 5. Dezember 1941.)

Es ist in letzter Zeit eine größere Anzahl einfacher und kompliziert gebauter organischer Basen dargestellt worden, die sich durch papaverin-, atropin- oder auch adrenalinähnliche krampflösende Eigenschaften auszeichnen. Wir haben eine weitere Gruppe von organischen Basen mit spasmolytischen Eigenschaften, die substituierten 4-Amino-piperidine, aufgefunden. Von mehreren Repräsentanten dieser Gruppe von Verbindungen (20) wurde das 4-Dimethylamino-1-phenyl-piperidin* als optimale Verbindung herausgegriffen und eingehender untersucht. Neben seiner spasmolytischen Wirksamkeit fiel uns während dieser Untersuchung auch seine sedative Wirkung auf. Die spasmolytische Wirksamkeit der erwähnten Verbindung wurde später auch klinisch erwiesen, worüber von anderer Seite berichtet wird.

Wir beschreiben zuerst die Versuche mit 4-Dimethylamino-1-phenyl-piperidin, die anderen untersuchten 4-Amino-piperidine werden im Anhang nur kurz erwähnt.

Versuche.

4-Dimethylamino-1-phenyl-piperidin wurde von Cerkovnikov und Prelog sowie von Hahn, Cerkovnikov und Prelog[1] dargestellt und beschrieben. Seine Konstitutionsformel ist

$$C_6H_5 \cdot N{<}\begin{matrix}CH_2{-}CH_2\\CH_2{-}CH_2\end{matrix}{>}CH \cdot N(CH_3)_2,$$

es ist eine zweisäurige Base.

Für die pharmakologische Untersuchung wurde das Dihydrochlorid der Verbindung verwendet. Dieses bildet farblose Stäbchen aus abs. Alkohol, Schmelzp. 252—253°. Es ist in Wasser sehr gut löslich, seine wässerigen Lösungen vertragen stundenlanges Erhitzen auf 100°, ohne sich chemisch oder pharmakologisch zu ändern. Die wässerigen Lösungen

* Die Verbindung wird unter dem Namen „Irenal" von der Kaštel A.-G. in den Handel gebracht.

[1] Ber. Dtsch. chem. Ges. **74**, 1648, 1658 (1941).

des Salzes reagieren stark sauer, eine 2,5%ige Lösung zeigt ein $p_H = 2{,}7$ (elektrometrisch bestimmt), sie lassen sich aber ohne Trübung bis zur neutralen Reaktion puffern. Die Verbindung zeigt demnach vorteilhafte chemische Eigenschaften, welche ihre Beständigkeit und leichte Sterilisierbarkeit gewähren.

Toxizität.

Die akute letale Dose, bei subcutaner Darreichung an weißen Mäusen bestimmt, beträgt 6 mg/20 g. Bei toxischen Dosen werden die Versuchstiere unruhig, die Atmung wird erschwert, es kommt zu Gleichgewichtsstörungen und der Tod erfolgt im Krampf.

Bei Kaninchen wurde die akute D.L.M. bei intravenöser Darreichung zu 150 mg/kg gefunden. Der Tod erfolgte ebenso wie bei den Mäusen im Krampf. Bei der Sektion wurde eine intensive Darmbewegung beobachtet.

Die Verträglichkeit der Verbindung ist gut. Mehreren Kaninchen wurden 21 Tage 20 mg der Substanz täglich subcutan verabreicht. Es konnte während des Versuches und nach dem Versuche keine Veränderung im Blutbilde und in dem Gesamtbefinden der Tiere festgestellt werden und in dem Harn ließ sich kein Urobilinogen, Eiweiß oder Zucker nachweisen.

Gewicht kg	Tägliche Dosis mg	Tag	Erythrocyten	Leukocyten	Hämoglobin	Differentialblutbild
1,5	20	1	5 240 000	9 600	70	normal
	20	10	4 004 000	12 000	65	
1,65	20	20	4 520 000	13 120	62	
7 Tage nach der Behandlung:			4 640 000	7 600	60	
1,5	20	1	4 680 000	10 400	73	normal
	20	10	4 400 000	9 920	69	
1,75	20	20	3 980 000	8 960	60	
7 Tage nach der Behandlung:			4 000 000	7 300	68	

Resorption und Ausscheidung.

(Bearbeitet von E. Cerkovnikov.)

Wie aus allen Versuchen, die wir auf ganzen Tieren ausgeführt haben, hervorgeht, erfolgt die Resorption bei subcutaner wie bei peroraler Darreichung in wenigen Minuten.

Im Harn konnten wir die unveränderte Verbindung nicht wiederfinden, statt deren isolierten wir 9% der theoretisch möglichen Menge einer neuen Base als Pikrat von der Zusammensetzung $C_{13}H_{20}O_2N_2 \cdot 2\,C_6H_3O_7N_3$, welches sich demnach durch ein Mehrgehalt von zwei Sauerstoffatomen von dem Pikrat der Ausgangsbase unterscheidet.

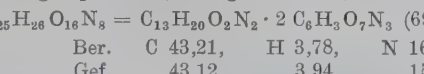
Der Harn zweier bei der Verträglichkeitsbestimmung verwendeten Kaninchen wurde unter Toluol gesammelt und 10mal mit 100 ccm Äther ausgezogen. Die ätherischen Auszüge wurden verdampft und der Rück-

stand mit Pikrinsäure gefällt. 3 Tage vor dem Versuche und 7 Tage nach dem Versuche wurde kein kristallinisches Pikrat gewonnen. Aus dem Harn der zwei Tiere wurden während der Behandlung mit insgesamt 840 mg des 4-Dimethylamino-l-phenyl-piperidin-dihydrochlorid 190 mg des schwer löslichen Pikrates isoliert. Aus Wasser umkristallisiert bildete es dünne Blättchen vom Schmelzp. 204—205°.

Analyse: 23,846 mg, 20,622 mg Subst.: 37,7 mg, 32,6 mg CO_2, 8,4 mg, 7,3 mg H_2O. — 3,460 mg Subst.: 0,470 ccm N_2 (19,5°, 746 mm)
$C_{25}H_{26}O_{16}N_8 = C_{13}H_{20}O_2N_2 \cdot 2\,C_6H_3O_7N_3$ (694,27).

Ber.	C 43,21,	H 3,78,	N 16,1.
Gef.	43,12,	3,94,	15,6.
	43,11,	3,96.	

Es konnte durch die Synthese wahrscheinlich gemacht werden, daß es sich um das 4-Dimethylamino-l-(o, p-dioxyphenyl)-piperidin-dipikrat handelt:



Die Synthese wurde durch Kondensation von 2, 4-Dimethoxy-anilin mit 1, 5-Dibrom-3-dimethylamino-pentan-hydrobromid unter den üblichen Bedingungen und Spaltung der Methoxy-Gruppen durch Erhitzen mit 66%iger Bromwasserstoffsäure im Bombenrohr auf 120° ausgeführt. Das Hydrobromid der so erhaltenen Base, welches nach dem Abdampfen der überschüssigen Bromwasserstoffsäure im Vak. zurückblieb, wurde mit Natriumpikrat umgesetzt. Das gefällte Dipikrat wurde aus Wasser umkristallisiert und schmolz bei 203–204°, Mischschmelzp. mit dem Pikrat aus dem Harn 203—204°.

Analyse: 3,038 mg Subst.: 0,431 ccm N_2 (23°, 762 mm).
$C_{25}H_{26}O_{16}N_8$ (694,27). Ber. N 16,1. Gef. N 16,4.

Kreislauf.

Auf das isolierte Froschherz nach Straub wirkt das 4-Dimethylamino-l-phenyl-piperidin noch in einer Konzentration von 10^{-4} nicht ein. Eine Lösung von der Konzentration 10^{-3} lähmt die Herzarbeit, durch Ausspülung mit Ringer-Lösung erholt sich aber das Herz vollkommen. Bei erneuter Einwirkung derselben Lösung erhält man wieder dasselbe Vergiftungsbild.

An dem Trendelenburgschen Froschpräparat konnte keine Wirkung auf die Blutgefäße mit Lösungen von der maximalen Konzentration 10^{-4} festgestellt werden.

Der Arterienblutdruck der mit Chloralose narkotisierten Katze wird durch 5 mg/kg Substanz intravenös vorübergehend vermindert, kommt aber schnell auf die ursprüngliche Höhe zurück. Eine atropinartige antagonistische Wirkung auf die Blutdruckerniedrigung durch kleine

Mengen Azetylcholin konnte nicht konstatiert werden (Abb. 1). Auch an der dekapitierten sowie atropinisierten Katze (1 mg/kg Atropin. sulfuric.) konnte eine Blutdruckerniedrigung beobachtet werden.

Im Gegensatz zu dem Arterienblutdruck, welcher erniedrigt wird, wurde der gleichzeitig gemessene Venenblutdruck nicht verändert. Der Venenblutdruck wurde an der linken V. femoralis mit einem Wassermanometer gemessen.

Eine eingehendere Analyse der Wirkung auf den Blutdruck wurde mit Hilfe der Onkometrie des Herzens, der Leber und durch die Messung des Durchströmungswiderstandes der hinteren Extremitäten des Hundes durchgeführt. Die Onkometrie des Herzens nach Rothberger[2] ergab eine kurz andauernde Vergrößerung des Herzvolumens, nach der eine Verkleinerung folgt, das Herz erholt sich dann sehr schnell. Der Versuch wurde mit einem Katzenherz durchgeführt, 5 mg der Substanz wurden intravenös gegeben. Die Onkometrie der Leber nach Henze-Jarisch[3] zeigte, daß sich die Leber nur unbedeutend vorübergehend kontrahiert. Durch die Messung des Druckwiderstandes der hinteren Extremitäten des Hundes konnte eine beträchtliche Dilatation der peripherischen Gefäße festgestellt werden. Einem 10,75 kg schweren Hunde wurden die hinteren Extremitäten mit dem Blute eines Spenders mit Hilfe der Schuster-Dale-Pumpe und Hooker-Oxygenator durchströmt. Der Druck wurde am arteriellen Zuflußrohr mit einem Quecksilbermanometer gemessen. Eine minimale Gabe von 40 mg des 4-Dimethylamino-l-phenyl-piperidin-dihydrochlorid erniedrigte beträchtlich den Widerstandsdruck des Systems. Demnach wirkt das 4-Dimethylamino-l-phenyl-piperidin auf die peripherischen Gefäße dilatierend und die Blutdruckerniedrigung ist wahrscheinlich dieser Wirkung zuzuschreiben, während das Splanchnicusgebiet wenig beeinflußt wird.

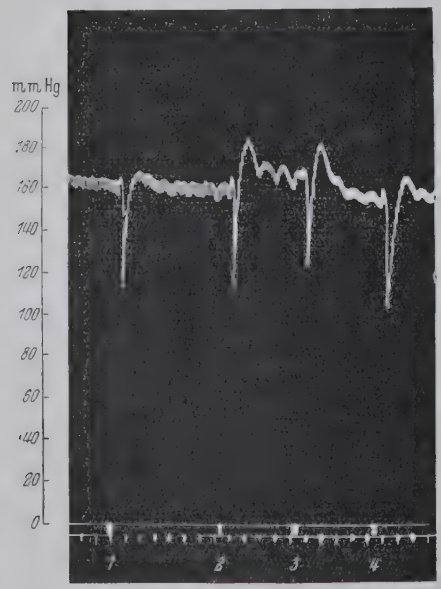


Abb. 1. Arterienblutdruck der Katze, ♀, 2,4 kg. Bei 1 und 4: 0.1 γ Azetylcholin „Roche". bei 2 und 3: je 10 mg 4-Dimethylamino-l-phenyl-piperidin-dihydrochlorid. Zeitmarker 30″.

[2] Pflügers Arch. **118**, 253 (1907). — [3] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 30 (1939).

Stoffwechsel.

Der respiratorische Quotient wird durch mittlere Dosen des 4-Dimethylamino-1-phenyl-piperidin nicht beeinflußt. Die Bestimmung des respiratorischen Quotienten wurde mit dem Zeissschen Interferometer für Gasanalyse nach Wollschitt, Bothe, Ruska und Schenck[4] bestimmt. Einem nüchternen, nicht narkotisierten Kaninchen von 1850 g, welches sich während des Versuches in einem Kupferthermostaten befand, wurden 20 mg 4-Dimethylamino-1-phenyl-piperidin-dihydrochlorid intravenös verabreicht. Der respiratorische Quotient war vor der Verabreichung 0,73 und blieb nach der Verabreichung 1 Stunde konstant 0,71 (zu 10 Minuten gemessen). Ein weiterer Versuch wurde mit einer Katze (3,75 kg) in Chloralosenarkose (60 mg/kg) durchgeführt. Das 4-Dimethylamino-1-phenyl-piperidin-dihydrochlorid wurde mit einer Dauerinfusionsspritze nach Müller[5] in die V. femoralis mit einer Geschwindigkeit von 2 mg/min während 35 Minuten eingeführt. Der respiratorische Quotient war während des ganzen Versuches unverändert 0,57. Der Blutdruck an der A. carotis gemessen, blieb während des Versuches konstant.

Die Wirkung auf den Blutzuckerspiegel.

Mittlere Dosen von 5 mg/kg des 4-Dimethylamino-1-phenyl-piperidin-dihydrochlorid intravenös zeigen keine Wirkung auf den nach Hagedorn-Jensen bestimmten Blutzuckergehalt des Kaninchens.

Gewicht des Versuchstieres	Zeit nach der Verabreichung				
	0	30 Min.	60 Min.	120 Min.	24 Std.
1,80	116	102	100	109	107 mg% Glucose
1,80	111	110	108	100	106 „ „

Atmung.

2,5 mg/kg intravenös des 4-Dimethylamino-1-phenyl-piperidin-dihydrochlorids üben auf die Atmungsfrequenz und Atmungstiefe des mit Urethan (1,25 g/kg) narkotisierten Kaninchens, registriert mit dem Apparat nach Wright[6], keinen nennenswerten Einfluß aus (s. Abb. 5).

Körpertemperatur.

Die Wirkung auf die normale Körpertemperatur wurde an Ratten bestimmt. 100 mg 4-Dimethylamino-1-phenyl-piperidin-dihydrochlorid pro kg subcutan veränderte nicht die normale Körpertemperatur.

---

[4] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **177**, 635 (1935). [5] Ebenda **194**, 426 (1940). — [6] J. Physiol. (Brit.) **80**, Heft 4 (1934).

Anästhesie.

Eine 2%ige Lösung der Substanz übt auf die Cornea des Kaninchens keine anästhesierende Wirkung aus. Ebenso negativ verlief ein Versuch nach Kochmann[7] am N. ischiadicus des Frosches.

Analgetische Wirkung.

Auf analgetische Wirkung prüften wir unsere Verbindung nach dem Verfahren von Eddy[8] mit der Apparatur modifiziert nach Albricht[9]. Es konnte bei der Anwendung von 10 und 20 mg/kg Katze subcutan keine Wirkung beobachtet werden.

Die Wirkung auf die Speichelsekretion.

Im Gegensatz zu Atropin wirkt 4-Dimethylamino-1-phenyl-piperidin-dihydrochlorid nicht hemmend auf die Speichelsekretion. Einem 7,5 kg schweren Hunde in Chloralosenarkose (60 mg/kg) wurde in den Ductus Whartoni eine Kanüle eingeführt und die Speichelsekretion durch Tropfenzahl kontrolliert. Eine mit 5×1 mg Pilocarpin hervorgerufene Sekretion wurde durch 30 mg der Substanz nicht vermindert, sondern sogar etwas verstärkt.

Die spasmolytische Wirkung.

Die spasmolytische Wirkung konnte an verschiedenen Versuchsobjekten bewiesen werden.

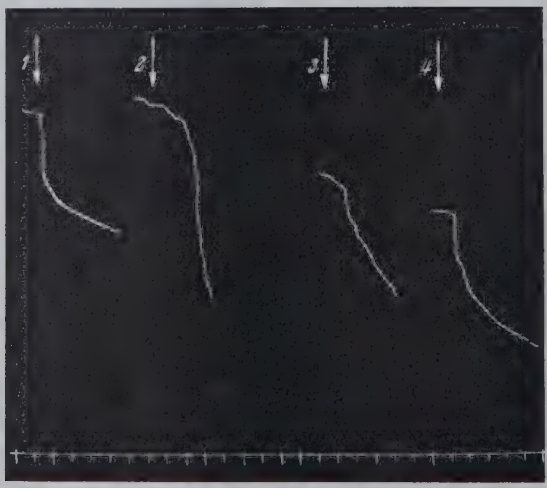


Abb. 2. Isolierter Dickdarm des Meerschweinchens in Tyrodelösung mit 10^{-3} Bariumchlorid. Bei 1: $20 \cdot 10^{-5}$ 4-Dimethylamino-1-phenyl-piperidin-dihydrochlorid. 2: Papaverin. hydrochloric. 10^{-5}. 3: $20 \cdot 10^{-5}$ Atropin. sulfuric., 4: $20 \cdot 10^{-5}$ 4-Dimethylamino-1-phenyl-piperidin-dihydrochlorid. Zeitmarken 10″.

[7] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **133**, 121 (1928). — [8] J. Pharmacol. (Am.) **45**, 339 (1932). — [9] Dissertation, Utrecht 1939.

1. Die Wirkung auf den isolierten Dickdarm des Meerschweinchens wurde nach dem Verfahren von Junkmann[10] bestimmt. Eine krampf-

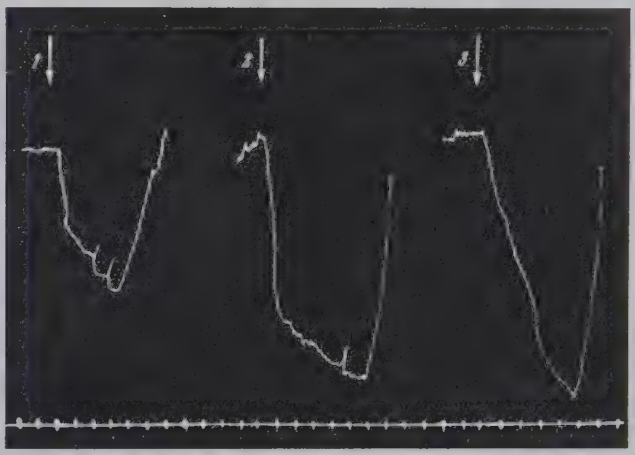


Abb. 3. Isolierter Dickdarm des Meerschweinchens in Tyrodelösung mit Pilocarpin $2 \cdot 10^{-5}$. Bei 1: 10^{-4} Papaverin. hydrochloric., 2: 10^{-4} 4-Dimethylamino-l-phenyl-piperidin-dihydrochlorid, 3: 10^{-4} Atropin. sulfuric. Zeitmarken 10″.

Abb. 4. Isolierter Dickdarm des Meerschweinchens in Tyrodelösung mit Lentin 10^{-7}. Bei 1: $2 \cdot 10^{-5}$ Papaverin. hydrochloric., 2: 10^{-5} 4-Dimethylamino-l-phenyl-piperidin-dihydrochlorid, 3: 10^{-7} Atropin. sulfuric. Zeitmarken 10″.

Abb. 5. Kaninchen, ♂, 2,2 kg. Oben: Cardia ventriculi. Mitte: Atmung. Unten: Arterienblutdruck. Bei 1: 5 mg 4-Dimethylamino-1-phenyl-piperidin-dihydrochlorid. Zeitmarken 30″.

lösende Wirkung läßt sich schon an dem unbehandelten Darm feststellen. Auf Pilocarpinkrampf ($5 \cdot 10^{-4}$ Pilocarpin in Tyrodelösung) wirkt 4-Dimethylamino-l-phenyl-piperidin ebenso stark wie Atropin und etwas stärker als Papaverin, während es sich bei Bariumchloridkrampf (10^{-3} Bariumchlorid in Tyrodelösung) dem Papaverin unterlegen zeigt und eine krampflösende Wirkung, welche quantitativ der Wirkung des Atropins ähnlich ist, entfaltet. Die Wirkung auf Lentinkrampf (10^{-7} Lentin in Tyrodelösung) ist quantitativ schwächer als bei Atropin und stärker als bei Papaverin. (Abb. 2, 3 und 4).

2. An dem Cardiospasmus, nach dem Verfahren von v. Brücke und Stern[11] untersucht, zeigt sich 4-Dimethylamino-l-phenyl-piperidin dem Papaverin etwas überlegen, indem es schon in Gaben von 0,5 mg/kg den durch Vagusdurchschneidung hervorgerufenen Krampf der Cardia ventriculi auflöste (Abb. 5). Den Wert des Verfahrens für die vergleichende Untersuchung der krampflösenden Verbindungen haben v. Brücke und Jesserer[12] und Werle und Schwarz[13] bestätigt, wir haben sie darum auch für die vergleichende Untersuchung anderer substituierter 4-Aminopiperidine herangezogen.

3. Eine starke spasmolytische Wirkung konnten wir auch an den mit Histamin behandelten Meerschweinchen feststellen. Wenn man nach Kalosz und Pagel[14] die Meerschweinchen in eine Atmosphäre, welche zerstäubte Histaminlösung enthielt, hineinbrachte, so erfolgte bei unseren Versuchsbedingungen bei unvorbehandelten Versuchstieren spätestens nach 5 Minuten ein schwerer Krampfausbruch. Die mit 30 mg 4-Dimethylamino-l-phenyl-piperidin-dihydrochlorid vorbehandelten Meerschweinchen blieben unter denselben Versuchsbedingungen dauernd gesund, während 30 mg Papaverin. hydrochlor. den Histaminkrampf nicht verhindern konnten.

[10] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **186**, 552 (1937). — [11] Ebenda **189**, 311 (1938). — [12] Ebenda **190**, 515 (1938). — [13] Klin. Wschr. **19**, 245 (1940). — [14] Acta medica scand. **91**, 292 (1937) nach Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 109 (1940).

Nach einem zweiten unlängst von Konzet[15] beschriebenen Verfahren konnten wir weiter den Tod bei mit der letalen Gabe (7,5 mg/kg) Histamin behandelten Meerschweinchen von 300—400 g mit einer Dosis von 5 mg 4-Dimethylamino-1-phenyl-piperidin-dihydrochlorid subcutan verhindern, während selbst 20 mg Papaverin. hydrochlor. subcutan den Tod nicht verhindern konnten.

4. Die bronchospasmolytische Wirkung konnten wir weiter auf das ganze Tier und auf isolierte Lungen des Hundes nach dem Verfahren von Konzet und Rössler[16] beobachten.

Einem 14 kg schweren Hunde in Chloralosenarkose (70 mg/kg) wurde, nachdem die künstliche Atmung mit der Starling-Pumpe eingeleitet wurde, der Thorax geöffnet und die Inspirationsleitung wurde mit dem vorzüglich arbeitenden Ventil nach Konzet-Rössler verbunden. Nachdem mit Pilocarpin ein starker Krampf der Bronchien ausgelöst wurde, wurden 50 mg 4-Dimethylamino-1-phenyl-piperidin-dihydrochlorid intravenös gegeben, wonach sich der Krampf glatt löste (Abb. 6).

Abb. 6. Hund, 14,0 kg. Bronchen nach Konzet-Rössler. Bei 1: 1 + 2 + 2 mg Pilocarpin, 2: 20 mg 4-Dimethylamino-1-phenyl piperidin-dihydrochlorid. Zeitmarken 30″.

Denselben Effekt konnten wir auch an den isolierten Lungen des Hundes feststellen. Die Lunge wurde mit der Schuster-Dale-Pumpe mit dem Blute von einem Spender durchströmt. Eine Kanüle wurde in die A. pulmonalis, die andere in den linken Vorhof eingeführt, das Herz wurde auf der Basis unterbunden. Mit Pilocarpin wurde wieder ein Krampf ausgelöst, welcher durch 20 mg 4-Dimethylamino-1-phenyl-piperidin-dihydrochlorid (für Lungen von 15—22 kg schweren Hunden) gelöst wurde. Dieselbe Dosis Papaverin. hydrochlor. gab annähernd denselben Effekt.

5. Nach dem Verfahren von Straub und Viand[17] konnten wir nachweisen, daß 4-Dimethylamino-1-phenyl-piperidin-dihydrochlorid in Gaben von 5 mg intravenös keinen merklichen Einfluß auf die spontane Darmperistaltik der Meerschweinchen (680 g) ausübt. Der Krampf nach der Wasserzufuhr wurde gelöst, die Peristaltik erholte sich von selbst.

6. Auch auf den Dünndarm des Meerschweinchens (760—870 g) in situ nach Trendelenburg[18] konnte die spasmolytische Wirkung von 5 mg 4-Dimethylamino-1-phenyl-piperidin-dihydrochlorid nachgewiesen werden.

---

[15] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, 27 (1941). — [16] Ebenda **195**, 71 (1940). — [17] Ebenda **169**, 1 (1933). — [18] Z. Biol. **61**, 67 (1913).

Die Wirkung auf die Coronargefäße.

Nachdem so an verschiedenen Versuchsobjekten die krampflösende Wirkung des 4-Dimethylamino-l-phenyl-piperidins nachgewiesen wurde, versuchten wir auch eine analoge Wirkung auf die Coronargefäße experimentell festzustellen. Zu diesem Zwecke wurde an einem Herz-Lungenpräparat nach Starling (Hund 14,5 kg) in den Sinus venosus eine Morawitz-Zannsche Kanüle eingeführt und das Minutenvolumen mit einer Kippstromuhr nach Condon[19] gemessen. 50 mg des 4-Dimethylamino-l-phenyl-piperidin-dihydrochlorids vergrößerten den Durchfluß um etwa 40 %.

Sedative Wirkung.

Für die Untersuchung der sedativen Wirkung bedienten wir uns des vorzüglichen Laufteller-Verfahrens nach Forst[20]. Die Mäuse wurden vor dem Versuch mit 0,1 mg des Phenyl-isopropylaminhydrophosphats („Aktedron") subcutan vorbehandelt, wobei es zu einer gut reproduzierbaren Unruhe der Versuchstiere kommt. Die angegebene Dosis des Weckamins wählten wir wegen der Gleichmäßigkeit der Erregung, welche fast 3 Stunden andauert. 0,1 mg des 4-Dimethylamino-l-phenyl-piperidin-dihydrochlorids ($^1/_{60}$ der letalen Dosis) bringt die Laufkurve der Versuchstiere fast auf die normale zurück (Abb. 7)[21]. Auch Atropin zeigt eine gewisse sedative Wirkung, bekanntlich wird es schon längere Zeit gegen die motorische Unruhe bei Encephalitis chronica verwendet. Nach unserem Verfahren vergleichend geprüft, zeigen 0,1 mg/20 g Atropin. sulfuric. eine kürzerdauernde Wirkung, als dieselbe Dosis unserer Verbindung (Abb. 7).

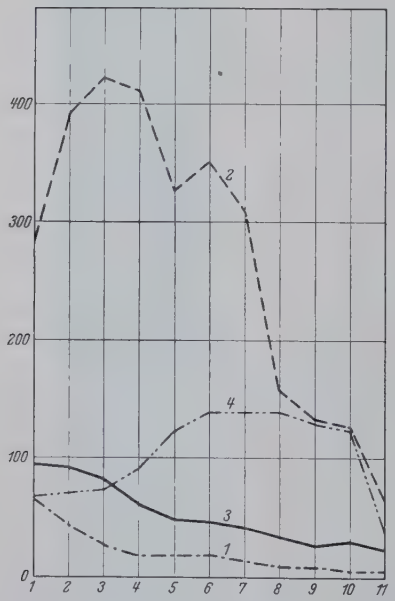


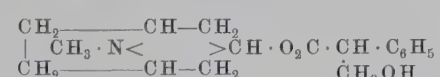
Abb. 7. Mittlere Laufkurven nach Forst.
1. Unbehandelte normale Mäuse.
2. 0,1 mg Aktedron (Phenyl-isopropylamin-hydrophosphat).
3. 0,1 mg Aktedron und 0,1 mg 4-Dimethylamino-l-phenyl-piperidin-dihydrochlorid.
4. 0,1 mg Aktedron und 0,1 mg Atropin. sulfuric.

Besprechung der Versuche.

Wenn wir die Ergebnisse unserer Versuche über die spasmolytische

[19] Magnus: Einfaches pharmakologisches Praktikum, Berlin 1921. S. 48. — [20] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **192**, 275 (1939). — [21] Die Verwendung der mit Weckaminen vorbehandelten Tiere für die Bestimmung der sedativen Wirkung ist vorteilhaft. Eine andere Methode bedient sich einer Schwanzklemme [Straub u. Triendl: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**, 481 (1940)].

Wirkung des 4-Dimethylamino-1-phenyl-piperidins betrachten, so können wir feststellen, daß es im Vergleich mit den typischen Vertretern der krampflösenden Stoffe: Papaverin, Adrenalin und Atropin, dem letzteren pharmakodynamisch am nächsten steht. Gegen das typische Muskelgift Bariumchlorid wirkt Papaverin auf den isolierten Dickdarm stärker als Atropin und unsere Verbindung, während bei dem neurotropen Krampfgift Pilocarpin 4-Dimethylamino-1-phenyl-piperidin und Atropin quantitativ beinahe gleich und stärker als Papaverin wirken. Gegen das cholinergische Lentin zeigt sich unsere Verbindung dem Papaverin überlegen, aber schwächer wirksam als Atropin. Auch am ganzen Tier bei der Auflösung der nach Vagusdurchschneidung auftretenden Cardiospasmen wirkt unsere Verbindung etwas stärker als Papaverin. In allen diesen Fällen tritt die Wirkung auf das vegetative Nervensystem hervor. Nachdem für adrenalinergische Eigenschaften keiner von unseren Versuchen spricht, bleibt eine atropinartige Wirkung als Erklärung der krampflösenden Eigenschaften übrig. In bezug darauf haben wir das 4-Dimethylamino-1-phenyl-piperidin auf andere charakteristische pharmakologische Eigenschaften des Atropins untersucht. Es konnte aber weder eine hemmende Wirkung auf die Speichelsekretion, noch eine mydriatische Wirkung beobachtet werden. Ebensowenig konnten wir eine antagonistische Wirkung gegen die Blutdruckerniedrigungen mit kleinen Mengen Azetylcholin nachweisen. Ein ähnlicher Fall ist schon von v. Brücke und Jesserer beschrieben worden: Das Trasentin, welches chemisch mit dem Atropin verwandt ist, zeigt auch diese antagonistische Wirkung nicht. Unsere Verbindung ist chemisch mit dem Atropin insofern verwandt, indem dieses auch als ein 4-substituiertes Piperidinderivat aufgefaßt werden kann:



Atropin.

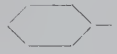
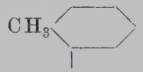
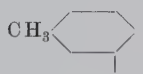
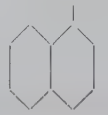
Die sedative Wirkung der untersuchten Verbindung ist sehr wahrscheinlich der Wirkung auf die höheren Gehirnzentren zuzuschreiben, nachdem sie die durch Weckamine ausgelöste motorische Unruhe der Versuchstiere herabsetzt; diese Wirkung der Weckamine wird aber der Wirkung auf die höheren Gehirnzentren zugeschrieben.

Nachdem die übrigen Versuche zeigten, daß das 4-Dimethylamino-1-phenyl-piperidin eine gut verträgliche und harmlose Substanz ist, wurde es der klinischen Prüfung übergeben.

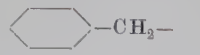
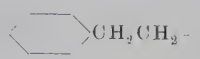
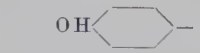
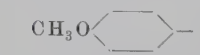
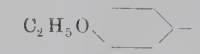
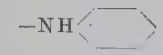
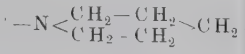
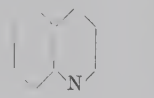
Anhang.

Über die weiteren substituierten 4-Amino-1-phenyl-piperidine.

Eine Übersicht der von uns untersuchten Verbindungen gibt folgende Tabelle:

Nr.	Verbindung	R	R'	Mol.-Gew.	D. L. M.	Spasmolytische Wirksamkeit
1	4-Dimethylamino-l-n-butyl-piperidin-dihydrochlorid	$-N(CH_3)_2$	$n\text{-}C_4H_9$	253	30	0 +
2	4-Dimethylamino-l-isobutyl-piperidin-dihydrochlorid	$-N(CH_3)_2$	$i\text{-}C_4H_9$	253	40	0 +
3	4-Dimethylamino-l-n-heptyl-piperidin-dihydrochlorid	$-N(CH_3)_2$	$n\text{-}C_7H_{15}$	299	15	+++
4	4-Dimethylamino-l-cyclohexyl-piperidin-dihydrochlorid	$-N(CH_3)_2$	$CH_2<\begin{matrix}CH_2-CH_2\\CH_2-CH_2\end{matrix}>CH-$	283	10	++
5	4-Amino-l-phenyl-piperidin-dihydrochlorid	$-NH_2$		249	3	+
6	4-Methylamino-l-phenyl-piperidin-dihydrochlorid	$-NHCH_3$		263	5	+
7	4-Dimethylamino-l-phenyl-piperidin-dihydrochlorid	$-N(CH_3)_2$		277	6	+++
8	4-Dimethylamino-l-o-tolyl-piperidin-monohydrochlorid	$-N(CH_3)_2$		254,6	6	+
9	4-Dimethylamino-l-m-tolyl-piperidin-dihydrochlorid	$-N(CH_3)_2$		297	30	+
10	4-Dimethylamino-l-p-tolyl-piperidin-monohydrochlorid	$-N(CH_3)_2$		254,6	0,7	+
11	4-Dimethylamino-l-α-naphthyl-piperidin-dihydrochlorid	$-N(CH_3)_2$		327	4	0

Fortsetzung.

Nr.	Verbindung	*R*	*R'*	Mol.-Gew.	D. L. M.	Spasmolytische Wirksamkeit
12	4-Dimethylamino-1-benzyl-piperidin-monohydrochlorid	$-N(CH_3)_2$		254,6	30	0 +
13	4-Dimethylamino-1-β-phenyläthyl-piperidin-monohydrochlorid	$-N(CH_3)_2$		268,7	30	++
14	4-Dimethylamino-1-p-oxyphenyl-piperidin-dihydrobromid	$-N(CH_3)_2$		382	40	++
15	4-Dimethylamino-1-p-methoxyphenyl-piperidin-dihydrochlorid	$-N(CH_3)_2$		307	7,5	+
16	4-Dimethylamino-1-p-äthoxyphenyl-piperidin-dihydrochlorid	$-N(CH_3)_2$		321	10	0
17	4-Dimethylamino-1-p-dimethylamino-phenyl-piperidin-dihydrochlorid	$-N(CH_3)_2$		356,6	7,5	0
18	4-Phenylamino-1-phenyl-piperidin-dihydrochlorid			325	70	+
19	4-Piperidino-1-phenyl-piperidin-dihydrochlorid			317	20	++
20	8-[4-Dimethylamino-piperidino]-chinolin-dihydrochlorid	$-N(CH_3)_2$		328	10	++

Die Tabelle enthält neben dem Namen und der Formel der untersuchten Verbindung ihr Molekulargewicht, die minimale letale Dosis bei der subcutanen Darreichung für 20 g weiße Maus und die relative spasmolytische Wirksamkeit, bestimmt nach der Methode von v. Brücke und Stern an der Cardia ventriculi. Wir wählten dieses Verfahren, da es mit dem ganzen Versuchstier und nicht mit den isolierten Organen arbeitet.

Aus der Tabelle kann man wieder die schon mehrere Male festgestellte Tatsache entnehmen, daß wir noch weit davon entfernt sind, die Zusammenhänge zwischen chemischer Konstitution und pharmakologischer Wirkung zu durchschauen. Es konnten keine allgemeinen Zusammenhänge zwischen der Konstitution und spasmolytischer Wirkung gefunden werden.

Aus dem Institut der Pharmakologie der königl. Universität Padua.
(Direktor: Prof. E. Meneghetti.)

Die antisulfamidische Wirkung von dem Sulfanilamid chemisch verwandten Stoffen.

Von

P. Benigno.

(Eingegangen am 26. Dezember 1941.)

Die Entdeckung der Sulfamide hat das Interesse und die Untersuchungen der Forscher über die Wirkungskraft der Chemotherapie gesteigert und gerade, was das Sulfanilamid anbetrifft, muß man erkennen, daß, indem man allgemeine Ideen verfolgte, man in den letzten Jahren bedeutende Fortschritte gemacht hat, wozu mehrere Verfasser, die von verschiedenen Gesichtspunkten ausgegangen sind, beigetragen haben.

Lockwood (1), 1938, vermutete als einer der ersten, nachdem er beobachtete, daß kleine Mengen Pepton in vitro die bakterienstatische Wirkung des Sulfamids hemmten, daß das hinzugefügte Pepton vom Keim in den Metabolismusprozessen verwertet wird, die schon früher durch die Sulfanilamidwirkung verändert oder gehemmt waren, die in einer Hemmung der Spaltung der komplexen Proteine bestände, während der Keim auch in Gegenwart der Sulfamide die Fähigkeit behielt, einfachere Produkte wie das Pepton zu verwerten.

Offenbar inspiriert sich diese Hypothese an der Kenntnis über die Hemmungswirkung, die mehrere Arzneien auf enzymatische Prozesse haben und die auch im Falle der Sulfamiden manchmal festgestellt wird [z. B. Hemmungswirkung auf das oxydative System der Kartoffel (2)].

Eine sehr bemerkenswerte Erweiterung der Frage, die auch einen großen Wiederhall gefunden hat, ist die, die von Stamp und Camb (3) im Jahre 1939 und von Green (4) und von Woods (5) 1940 erreicht worden ist. Die ersteren isolierten aus dem hämolytischen Streptokokkus einen nicht gut bestimmbaren Baustoff, der die bakterienstatische Wirkung der Sulfamide in vitro hemmte. Green erreichte dieselben Ergebnisse mit einem in dem Brucella-Abortus isolierten Stoff. Endlich isolierte Woods, diese Ergebnisse bestätigend, aus den Bierhefeauszügen einen Stoff mit antisulfamidischer Wirkung und folgert, daß es sich sehr wahrscheinlich um *p*-Aminobenzoesäure handelt. Wirklich zeigt diese Säure in vitro eine deutliche hemmende Wirkung auf die bakterienstatische Wirkung der Sulfamide. Später zeigte Selbie (6), daß die mit hämolytischen Streptokokkus eingeimpfte weiße Ratte nicht mehr vom Sulfamid gerettet wird, wenn man damit *p*-Aminobenzoesäure einspritzt.

Parallel auf einem anderen Gebiet erklärte Fildes (7) die antibakterische Wirkung des Quecksilberions auf Grund seiner experimentellen Ergebnisse, nach denen man, indem man dieses aus der allgemeinen Formel R—SH zusammengesetzte Ion blockierte und unter solchen Mischungen wesentlicher Metaboliten verschiedenste Bildungen fand und man infolge der Quecksilberwirkung eine Funktionshemmung nötiger Faktoren des Metabolismus hatte. Obgleich die experimentellen Ergebnisse des Fildes auch kürzlich dokumentierten Widerstand fanden (8), besteht doch kein Zweifel daran, daß seine Auslegung sich mit der über die sulfamidische Wirkung ausgesprochenen deckt. Jedenfalls wirkte der pharmakologische Erreger durch eine Interferenzwirkung von Metaboliten, die den Keimen wesentlich sind; auf eine solche Interferenz folgt offenbar eine Hemmung oder eine gänzliche Einstellung des Keimwachstums.

Meine Untersuchungen wurden mir gerade durch die obengenannten, kurz angegebenen eingegeben, und besonders durch die Nachuntersuchungen von Woods. Als nötige Grundlage für neue Nachforschungen habe ich die vorstehenden Ergebnisse in vitro nachgeprüft, und dann habe ich sie auf die Erforschung über die Hemmungswirkung der p-Aminobenzoesäure gegenüber anderen Derivaten ausgedehnt. Später habe ich den Einfluß der Keimvirulenz auf die Hemmungswirkung der p-Aminobenzoesäure nachgeprüft, eine Untersuchung, die nach dem von Cestari (9) hier im Institut gegebenen Beweis besonderes Interesse hervorrief, daß nicht nur ein Mangel, sondern auch ein Überschuß von Virulenz der therapeutischen Wirkung schädlich ist. Endlich habe ich die Untersuchungen auf die Isomerien „ortho“ und „meta“ jener Säure, auf die komplexen Molekulare, die die benzoelische Gruppe (Novokain) enthalten und jenen chemischen Stoff ausgedehnt, der mehr als alle anderen sowohl der typhischen Sulfamide als auch seinem Gegner p-Aminobenzoesäure gleichzeitig ähnlich ist, nämlich das p-Aminobenzolamid.

Technik.

Die in diesen meinen Untersuchungen angewandte Technik ist die von Cestari (10) in seiner Arbeit über die Titration der Sulfamide ausgearbeitete, worauf ich hinweise. Ich möchte nur erwähnen, daß ich als Versuchstier die weiße Ratte genommen habe und als Einführungsweg der Arznei habe ich die subkutane gebraucht und habe sowohl das Sulfamid als auch die anderen Heilmittel wegen ihrer Schwerlöslichkeit in einer Aufschwemmung von Gummi arabicum eingespritzt. Die Einspritzung wurde unmittelbar vor der Infizierung ausgeführt und dann alle 24 Stunden fünfmal nacheinander. Die Infizierung wurde peritoneal gemacht, indem ich einen pyogenen Streptokokkus (Stamm Morue) gebrauchte, der unserem Laboratorium vom Institut Pasteur in Paris zugesandt worden ist. So erhält man eine Septikämie, so daß die Ratte innerhalb 20 bis 24 Stunden stirbt.

Experimente mit der p-Aminobenzoesäure.

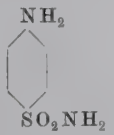
In vitro hat die p-Aminobenzoesäure, wenn sie in verschiedener Menge von 0,1—50 mg für 10 ccm Bouillon zugefügt wird, nie die Schnelligkeit des Keimwachstums beeinflußt. In vivo beschleunigt sie mit Infizierungsdosen, die 1000—10000mal höher als die kleinste tödliche Dosis ist, nicht den Tod der Kontrolltiere, noch bemerkt man einen Unterschied, wenn man Keime einspritzt, die sich in einem Raum entwickelt haben, der p-Aminobenzoesäure enthält. Da ich also eine auf den Keim nachweisbare Wirkung ausschloß, studierte ich dann die antisulfamidische Wirkung der p-Aminobenzoesäure im Gegensatz zum Sulfamid, zum Thiazolsulfamid und zum roten Protonsil. Tabelle 1 zeigt die Resultate. Ich erwähne nochmals, daß die infizierten und mit verschiedenen Sulfamiden behandelten Ratten in gleichen experimentellen Verhältnissen überlebten.

Tabelle 1.

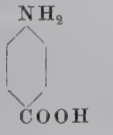
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Kontrolltiere, mit eingespritzter Bouillonkultur	L	†								
	L	†								
	L	†								
p-Aminophenylsulfamidsäure, 0,65 g/kg	L	L	L	†						
	L	L	L	†						
p-Aminobenzoesäure, 0,065 g/kg	L	L	L	†						
	L	L	L	L	L	†				
p-Aminophenylsulfamidsäure, 0,65 g/kg	L	†								
	L	†								
p-Aminobenzoesäure, 0,50 g/kg	L	L	†							
	L	L	†							
Sulfamidthiazol, 0,65 g/kg	L	L	†							
	L	L	†							
p-Aminobenzoesäure, 0,50 g/kg	L	L	†							
	L	L	†							
Rotes Prontosil, 0,65 g/kg	L	†								
	L	†								
p-Aminobenzoesäure, 0,50 g/kg	L	†								
	L	L	†							

Bouillonkultur: kleinste tödliche Dosis 0,3 ccm verdünnt auf 10^{-7}; gebrauchte Dosis 0,3 ccm verdünnt auf 10^{-3}.

Aus diesen Experimenten ergibt sich, daß die antisulfamidische Wirkung der p-Aminobenzoesäure mit der Zunahme der Dosis deutlicher hervortritt, und das ist auch bei dem Sulfamidthiazol und dem roten Prontosil der Fall:



p-Aminophenylsulfamid



p-Aminobenzoesäure

Während diese Untersuchungen ausgeführt wurden, hebt Cestari aus diesem Institut die Tatsache hervor, daß mit der Veränderung der Keimvirulenz, ganz gleich, ob diese größer oder kleiner ist, sich seine sulfamidische Empfindlichkeit vermindert. In der Tat starben die Ratten, die früher weiterlebten, wenn sie mit demselben Stamm infiziert wurden und dessen kleinste tödliche Dosis 0,3 ccm mit einer Verdünnung von 10^{-11} und mit Sulfamid behandelt war, nach 10—12 Tagen.

In diesen experimentellen Bedingungen habe ich die antisulfamidische Wirkung der p-Aminobenzoesäure geprüft und die in der Tabelle 2 eingeschriebenen Ergebnisse erhalten. In gleichen experimentellen Bedingungen lebten die infizierten und mit p-Aminophenylsulfamid behandelten Ratten noch 10 und 12 Tage.

Tabelle 2.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
p-Aminophenylsulfamid, 0,65 g/kg	L	L	L	†						
	L	L	L	L	L	†				
p-Aminobenzoesäure, 0,25 g/kg	L	L	L	L	L	L	†			
	L	L	L	L	L	L	L	L	L	†
p-Aminophenylsulfamid, 0,65 g/kg	L	L	L	†						
	L	L	L	†						
p-Aminobenzoesäure, 0,50 g/kg	L	L	L	†						
	L	L	L	L	†					

Bouillonkultur: kleinste tödliche Dosis 0,3 ccm verdünnt auf 10^{-11}; gebrauchte Dosis 0,3 ccm verdünnt auf 10^{-7}.

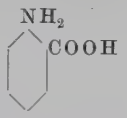
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
p-Aminophenylsulfamid, 0,65 g/kg	L	†								
	L	L	†							
p-Aminobenzoesäure, 0,50 g/kg	L	L	†							
	L	L	L	†						

Bouillonkultur: kleinste tödliche Dosis 0,3 ccm verdünnt auf 10^{-11}; gebrauchte Dosis 0,3 ccm verdünnt auf 10^{-3}.

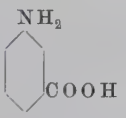
Aus diesen Experimenten ergibt sich, daß die antisulfamidische Wirkung der p-Aminobenzoesäure in diesen besonderen experimentellen Verhältnissen durch 10000000mal größere Verdünnungen als die kleinste tödliche Dosis konstant bleibt, während sie für 10000mal größere Verdünnungen als die kleinste tödliche Dosis weniger wirksam wird; sie ist dann deutlich weniger wirksam für geringere Mengen p-Aminobenzoesäure. Das heißt im allgemeinen, wenn eine deutliche Zunahme der Virulenz vorhanden ist, beobachtet man außer jenem Optimum, bei dem sich die sulfamidische Wirkung offenbart, auch eine Verminderung der hemmenden Wirkung der p-Aminobenzoesäure.

Experimente mit den „ortho"- und „meta"-Aminobenzoesäuren.

In Tabelle 3 sind die Ergebnisse dieser Experimente eingetragen. In gleichen experimentellen Bedingungen leben die infizierten und behandelten Kontrollratten fort.



o-Aminobenzoesäure



m-Aminobenzoesäure

Tabelle 3.

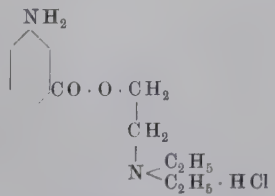
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
p-Aminophenylsulfamid, 0,65 g/kg . .	L	L	L	L	L	L	L	†		
	L	L	L	L	L	L	L	†		
o-Aminobenzoesäure, 0,50 g/kg	L	L	L	L	L	L	L	†		
	L	L	L	L	L	L	L	L	†	
p-Aminophenylsulfamid, 0,65 g/kg . .	L	L	L	L	L	L	†			
	L	L	L	L	L	L	L	L	†	
m-Aminobenzoesäure, 0,50 g/kg	L	L	L	L	L	L	L	L	†	
	L	L	L	L	L	L	L	L	†	

Bouillonkultur: kleinste tödliche Dosis 0,3 ccm verdünnt auf 10^{-7}; gebrauchte Dosis 0,3 ccm verdünnt auf 10^{-3}.

Es ist klar, daß die „ortho"- und „meta"-Säuren eine geringe antisulfamidische Wirkung haben. So bestätigen sich zum ersten Male in vivo die Untersuchungen von Woods in vitro.

Experimente mit Novokain.

In Tabelle 4 sind die Ergebnisse dieser Untersuchungen eingetragen In gleichen experimentellen Bedingungen leben die infizierten und behandelten Kontrollratten weiter:



Novokain

Tabelle 4.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
p-Aminophenylsulfamid, 0,65 g/kg..	L	L	†							
	L	L	L	†						
Novocain, 0,25 g/kg	L	L	L	†						
	L	L	L	L	L	†				

Bouillonkultur: kleinste tödliche Dosis 0,3 ccm verdünnt auf 10^{-7}; gebrauchte Dosis 0,3 ccm verdünnt auf 10^{-3}.

Es war unmöglich, eine größere Dosis Novokain anzuwenden, weil man Gifterscheinungen gehabt hätte.

Aus diesen Ergebnissen ergibt sich zum ersten Male in vivo, daß auch das Novokain eine antisulfamidische Wirkung hat. Diese schon in vitro von Woods beobachtete Wirkung wird von diesem Verfasser so erklärt, indem er eine Hydrolyse der komplexen Molekulare mit Befreiung von p-Aminobenzoesäure annimmt.

Experimente mit p-Aminobenzoeamid.

Wegen der bemerkenswerten chemischen Verwandtschaft zwischen Sulfamid und p-Aminobenzoeamid war es interessant zu bestimmen, ob dieser Stoff eine antisulfamidische Wirkung in vivo hätte[1]. In Versuchen, die mit der Absicht ausgeführt wurden, das Verhältnis der Dose zwischen Sulfamid und p-Aminobenzoeamid zu studieren, habe ich aber beobachtet, daß kleine Mengen p-Aminobenzoeamid (0,20 g/kg) genügend waren, eine Dose Sulfamid von 0,65 g/kg, die viel geringer als die kleinste tödliche Dosis war [von 6—8 g (11)], giftig zu machen. Andererseits ist die kleinste tödliche Dosis p-Aminobenzoeamid für die Ratte 1,6 g. Man kann daher von toxischer Potenzierung sprechen. Dosen von 0,13 g/kg p-Aminobenzoeamid und von 0,65 g/kg Sulfamid, wenn sie auch mehrere Male wiederholt wurden, wurden vom Tier gut ertragen. Trotzdem die Versuchsmöglichkeiten durch die Tatsache geschmälert waren, daß es nicht möglich war, proportionelle Mengen Sulfamid und p-Aminobenzoeamid zu gebrauchen, habe ich versucht, zu beweisen, ob das p-Aminobenzoeamid in vivo eine antisulfamidische Wirkung habe. Die Ergebnisse ersieht man in der Tabelle 5. In gleichen Versuchsverhältnissen lebten die infizierten und behandelten Ratten weiter.

[1] Man könnte sich auch fragen, ob diese dem Sulfamid so verwandte Arznei eventuell selbst eine chemotherapeutische Wirkung vom sulfamidischen Typus hat, eine Vermutung, die durch die Schlußfolgerungen von Mayer und Oechslin (12) bestätigt scheint, die deuten, daß die antibakterische Wirkung durch eine stickstoffhaltige aromatische Ansammlung verursacht und durch die Gegenwart in „para" einiger bestimmter Nebenfunktionen bedingt ist. Ich hebe noch hervor, wie es schon bekannt ist, daß die Ersetzung der Radikale $-SO_2NH_2$ mit der Radikale $-CONH_2$ untätige chemische Verbindungen gibt (13). Dieser Schluß ist auch von mir durch die Untersuchungen mit p-Aminobenzoeamid bestätigt worden.

Tabelle 5.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
p-Aminophenylsulfamid, 0,65 g/kg..	L	L	L	L	†					
	L	L	L	L	L	L	†			
p-Aminobenzoeamid, 0,13 g/kg	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
p-Aminophenylsulfamid, 0,30 g/kg..	L	L	L	†						
	L	L	L	L	L	L	†			
p-Aminobenzoeamid, 0,13 g/kg	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L

Bouillonkultur: kleinste tödliche Dosis 0,3 ccm verdünnt auf 10^{-7}: gebrauchte Dosis 0,3 ccm verdünnt auf 10^{-3}.

Da die Tiere überlebten und man erwägte, daß die angewandten Dosen der kleinsten tödlichen Dosis nahe waren, scheint es mir, daß man bei diesen Verhältnissen von einer antisulfamidischen Wirkung des p-Aminobenzoeamids sprechen kann. Noch scheint es andererseits, daß die Giftpotenzierung mit einer Potenzierung der chemotherapeutischen Wirkung übereinstimmt. Ich erinnere noch, daß Woods in vitro beobachtet hat, daß das p-Aminobenzoeamid eine hundertmal kleinere antisulfamidische Wirkung als jene der p-Aminobenzoesäure hat:

p-Aminobenzoeamid

Schlußfolgerungen.

Aus allen diesen Versuchen ergibt sich das Folgende:

1. Die antisulfamidische Wirkung der p-Aminobenzoesäure wird bestätigt, aber es wird auch hervorgehoben, daß diese Wirkung mit der Veränderung der Virulenz wechselt. Besonders entspricht dem Optimum der Sulfamidempfindlichkeit ein Optimum der Hemmungskraft. Wenn dagegen der Keim der Sulfamidwirkung weniger empfindlich wird, vermindert sich die Hemmungskraft der p-Aminobenzoesäure.

2. Die Hemmungskraft der p-Aminobenzoesäure ist streng an ihren Molekularbau gebunden. Wie die Wirkung der Sulfamide Null ist, worin die Schwefelgruppe sich in verschiedener Stellung von der „para"- in Hinsicht auf die Aminogruppe befindet (14), so wird die Hemmungswirkung der „ortho"- und „meta"-Säuren sehr gering, worin eine gleiche Bauänderung geschehen ist. Woods, der eine geringe antisulfamidische Kraft in vitro nur für die m-Aminobenzoesäure beobachtet hatte, glaubt sogar,

daß diese geringe Hemmungskraft an Spuren von p-Aminobenzoesäure, die in Isomerie vorhanden sind, gebunden ist [2].

3. Die in der dritten Versuchsgruppe bewiesene antisulfamidische Wirkung des Novokains kann man mit Woods als die Folge eines hydrolytischen Prozesses mit nachfolgender Befreiung der p-Aminobenzoesäure deuten.

4. Die Tatsache, daß das p-Aminobenzoeamid keine Hemmungswirkung hat, scheint die Wichtigkeit der Säurefunktion zu beweisen, damit eine solche Wirkung erscheinen kann.

5. Schwer zu deuten ist dagegen die Giftpotenzierung zwischen Sulfamid und p-Aminobenzoeamid. Wenn diese dem Metabolismus des Keims angehört, wäre ein Vergleich mit den Versuchen Cestaris interessant, der die giftige Zusammenwirkung zwischen Sulfamid und Keim hervorgehoben hat. Bei dem jetzigen Stand unserer Kenntnisse aber scheint es mir schwer, eine Deutung darüber zu geben. Jedoch ist die festgestellte Potenzierung ein neuer Beweis für die intime Verwandtschaft, die die zwei Arzneigruppen vereinigt: mit kleinen Bauveränderungen kann man von der Hemmungswirkung auf die sulfamidische Wirkung, auf eine Wirkungspotenzierung der sulfamidischen Giftigkeit übergehen.

Zusammenfassend ist es also möglich, daß das Sulfamid interferierend auf den Metabolismus der Keime, die für seine Wirkung empfindlich sind, mit dem Metabolismus des Keims nicht nötigen Stoffen, gut bestimmbaren chemischen Baues wirkt, aber dessen Block machte die Keime selbst der Verteidigungskraft des Organismus weniger widerstandsfähig. Mir scheint es aber unmöglich, daß die Sulfamidwiderstandskraft an die Gegenwart solcher Stoffe gebunden ist. Wenn man erkennen muß, daß in das Studium des Wirkungsmechanismus der Sulfamide die Versuche von Woods ein wirklich neues Licht gebracht haben, die erlaubt haben, das Problem unter wirklich originellem Standpunkt zu sehen, muß man auch hinzufügen, daß die übermäßige Ausbreitung, die der Verfasser seinen Schlußfolgerungen gegeben hat, für die jede Erscheinung, die die angedeuteten Probleme betreffen, als Antagonismus zwischen Sulfamide und p-Aminobenzoesäure gedeutet werden, nicht berechtigt erscheint. Besonders meine Versuche heben hervor, daß es unwahrscheinlich ist, daß der Erscheinung des Sulfamidowiderstandes eine Produktion von p-Aminobenzoesäure von Seiten der Keime entspricht. Auch im gegenwärtigen Falle muß man sich vor einer einfachen Vereinigung in der Deutung hüten, wenn sie auch unseren Wunsch von Schemen befriedigt, schwerlich der vielseitigen Gesamtheit der biologischen Erscheinungen entspricht [3].

[2] Das wird gesagt, ohne daß man die Möglichkeit verneinen will, daß andere Baustoffe, die von der p-Aminobenzoesäure verschieden sind, dagegen eine gleiche antisulfamidische Wirkung haben. In der Tat haben Kohn und Harris (15) im Jahre 1941 hervorgehoben, daß das Methyonin eine antisulfamidische Wirkung in vitro auf den Bac. Coli comm. hat und diese Verfasser behaupten, daß das Sulfamid in niedriger Konzentration die Synthese dieser Aminosäure hemmt. — [3] Versuche, die unter der Führung des Herrn Prof. A. Cestari gemacht wurden.

Literatur.

1) Lochwood, J. S.: Studies on the mechanism of the action of Sulfanilamide. III. The effect of Sulfanilamide in serum and blood on Haemolitic Streptococci in vitro. J. Immunol. **35**, 155 (1938). — 2) Donatelli, L.: L'azione dei sulfamidici sul sistema ossidasico della patata. Boll. Soc. Biol. sper. **16**, 229 (1941). — 3) Stamp, By., u. M. B. Camb: Bacteriostatic action of Sulphanilamide in vitro. Influence of fractions isoled from haemolitic streptococci. Lancet **237**, 10 (1939). — 4) Green, H. N.: The mode of action of Sulphanilamide. Brit. J. exper. Path. **21**, 38 (1940). — 5) Woods, D. D.: The relation of p-aminobenzoic acid to the mechanism of the action of Sulphanilamide. Brit. J. exper. Path. **21**, 74 (1940). — 6) Selbie, R.: The inhibition of the action of sulphanilamide in mice by p-aminobenzoic acid. Ebenda **21**, 90 (1940). — 7) Fildes, P.: The mechanism of the antibacterial action of mercury. Ebenda **21**, 67 (1940). — 8) Zamboni, P.: Osservazioni critiche sulla teoria di Fildes intorno all'attività antibatterica del sublimato. Boll. Soc. med.-chir. Modena **41**, Novembre 1940. — 9) Cestari, A.: Titolazione biologica dei sulfamidici e virulenza dei germi. Boll. Soc. Biol. sper. **16**, 356 (1941). — 10) Cestari, A.: Titolazione biologica e coefficiente terapeutico dei sulfamidici. Boll. Ist. sieroter. milan. **20**, 264 (1941). — 11) Findlay, G. M.: Recent advances in chemotherapy. Sec. edit. S. 337. London, J. u. A. Churchill, 1939. — 12) Mayer, R. L., u. Ch. Oechslin: Sur une nouvelle classe de corps antibacteriéns: l'acid p-nitrobenzoic et ses esters. Arch. internat. Pharmacodynam. **62**, 211 (1939). — 13) Findlay, G. M.: Recent advances in chemoterapy. Sec. edit. S. 367. London, J. u. A. Churchill, 1939. — 14) Durel, P.: Thérapeutique sulfamidée. S. 11. Paris, J. B. Baillière et fils, 1940. — 15) Kohn u. Harris: Specific antagonism between metionine and Sulfanilamide in E. Coli. Annual meeting of the Federation of American Societie for experimentel Biology-Chicago, Illinois 15—19 April 1941.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Basel.
(Vorsteher: Prof. Dr. H. Staub.)

Vergleichende Untersuchungen über die Wirkungen von Coramin, Coffein und Pervitin auf psychische und physische Leistung des ermüdeten und nichtermüdeten Menschen.

Von

Béla Pellmont.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 24. Dezember 1941.)

Eines der bekanntesten Weckamine, Pervitin, wurde in den vorliegenden Versuchen vergleichsweise mit Coramin und Coffein auf psychischem und physischem Gebiet untersucht.

Die bisherigen pharmakologischen und klinischen Resultate und Erfahrungen mit diesen drei Pharmaka werden als bekannt vorausgesetzt oder können den aufgeführten Literaturstellen entnommen werden.

1. Methodik.

A. Allgemeines.

Es wurden 4 Versuchsreihen durchgeführt. Wir teilen sie folgendermaßen ein:

1. Gruppe der großen Versuchsreihe mit vorausgehender Ermüdung.

2. Gruppe der kleinen Versuchsreihen ohne vorausgehende Ermüdung.

a) eingeübte Versuchspersonen,
b) nichtgeübte Versuchspersonen,
c) Bestimmung der Disposition im Laufe des Tages.

Abkürzungen:

Cr	= Coramin	VR	= Versuchsreihe
Cf	= Coffein	gr. VR	= große VR (mit Ermüdung)
Pv	= Pervitin	kl. VR	= kleine VR (ohne Ermüdung)
Lt	= Leertabletten	Pr	= Probe
T. D.	= Tagesdisposition	Vp	= Versuchsperson

\+ oder Zahl ohne Vorzeichen = Beeinflussung in günstigem Sinne bzw. Leistungssteigerung.

Als Versuchspersonen (Vp) dienten:

1. bei der großen Versuchsreihe (Vp 1—10) 2 Gesundheitsturner und 8 Wettkämpfer (3 Boxer, 3 Leichtathleten, 2 Skifahrer);

2. bei den kleinen Versuchsreihen:

a) gleiche Zusammensetzung wie unter 1. Vp 11—20;
b) 6 männliche und 4 weibliche Vp. Vp 21—30;
c) 6 männliche und 4 weibliche Vp. Vp 31—40.

Alter der Versuchspersonen 17—35 Jahre. In jeder Versuchsreihe sind 10 Versuchspersonen.

Die Versuche wurden genau überwacht und vorbereitet, um gleichmäßige Bedingungen zu schaffen.

Große Versuchsreihe. In dieser VR wurde die Wirkung der Medikamente am Ermüdeten untersucht. Zur Ermüdung hatten die Leute ein hartes, vielseitiges Mehrkampftraining zu bestehen. Die Medikamente wurden gegen Schluß des Trainings oral verabreicht:

Leertabletten	$^1/_4$ Stunde	= vor Trainingsschluß
Coramin R 2 Tabl. à 0,4 = 0,8 g ...	$^1/_4$ „	
Coffein. Natr. salicyl. 2 à 0,1 — 0,2 g	$^1/_2$ „	
Pervitin 2 Tabl. à 3 mg = 6 mg	$^1/_2$ „	

Die große Versuchsreihe wurde unmittelbar nach dem Training begonnen und dauerte etwa eine Stunde. Während dieser Zeitdauer darf eine Wirkung der Medikamente mit Sicherheit angenommen werden. Wir haben Coramin später als Coffein und Pervitin gegeben, weil die rasche Resorption des Coramins bekannt ist. Die verabreichte Coffeinmenge (0.2 g Coffein. Natr. salicyl.) entspricht 0,096 g reiner Coffeinbase.

Die Zeiten wurden mit zwei Stoppuhren bestimmt; die Reaktionszeiten mit dem Neuramoebiometer von Exner.

Der Faktor der Suggestion wurde durch Verabreichung von Leertabletten (Lt) ermittelt. Die Versuchspersonen wurden in keiner Weise über die Wirkung der verschiedenen Pharmaka orientiert, sie hatten von den Leertabletten keine Kenntnis.

Der Übungsfortschritt ist bei derartigen Untersuchungen zu berücksichtigen; er wurde dadurch ausgeglichen, daß die Reihenfolge der VR gewechselt wurde.

Die Tagesdisposition konnte bei der großen VR nicht jedesmal durch eine vorangehende VR ohne Medikamente ermittelt werden. Die Versuche wären viel zu kompliziert geworden und hätten trotzdem den Einfluß des Übungsfortschrittes und der neuerlichen Ermüdung nicht völlig ausgeschaltet. Die Vp hätten durch allzu große Häufung von Prüfungen das Interesse an der Durchführung der Experimente verloren. Es ist anzunehmen, daß die größere Anzahl der Versuche (3900 Einzelwerte) und Versuchspersonen, sowie die Verschiedenartigkeit der Prü-

fungen Zufälligkeiten weitgehend ausgeschaltet haben. Auch die Eindeutigkeit der Resultate spricht dafür.

In der großen VR lieferten einige Proben unbrauchbare Resultate; zum Teil waren zu große Unterschiede, zum Teil keine Gesetzmäßigkeit festzustellen. Diese unzuverlässigen Resultate wurden nicht berücksichtigt.

Den Vp wurde empfohlen, ihre gewohnte Lebensweise — mit gewissen Einschränkungen (Verbot von Kaffee, Tee, Alkohol usw.) — einzuhalten; es wurde ihnen eingeschärft, ihr Bestes zu leisten. Die Vp waren durchwegs zuverlässige Leute, die sich genau an die Vorschriften hielten.

B. Spezielles zur Methodik.

Die Prüfungen umfassen Kraft- und Geschicklichkeitsproben, sowie Versuche zur Ermittlung der psychischen Leistungsfähigkeit. Sie sind nachfolgend zusammengestellt:

Gruppen der Versuchsverfahren.

1. Kraftproben:

Dynamometer nach Collin,
Hantelversuch,
Expanderversuch.

2. Prüfung der manuellen Geschicklichkeit: in bezug auf Schnelligkeit, Sicherheit und Koordination der Bewegungen:

Nadeleinsteckprobe,
Einfädelversuch,
Perlentest,
Abfangversuch.

3. Prüfung von psychischen Leistungen: in bezug auf Konzentration, Rechnen, Distanzgefühl (manuell und visuell) usw.:

Gewichtsgefühlsproben,
Platyskopprobe,
Linealprobe,
Additionsprobe,
Zahlendeckprobe,
Zahlenaufsuchprobe,
Reaktionsgeschwindigkeit,
Schießen.

Versuchsanordnung der großen Versuchsreihe am Ermüdeten.

Pulskontrolle: Bestimmung der Frequenz vor Beginn der VR.
Dynamometer nach Collin (Handdruckprüfer):
App.: Kann als bekannt vorausgesetzt werden.

Vers.: Alle 10 Sekunden wurde jeweils mit der gleichen Hand, im ganzen 10mal, der Dynamometerwert ermittelt und der Mittelwert errechnet. Die Armhaltung war vorgeschrieben (Ellbogen 90°).

Hantelversuch.

App.: Hantel von 7 kg Gewicht.

Vers.: Erstens wurde die Zeit gemessen, wie lange die Vp die Hantel bei seitwärts ausgestrecktem Arm in horizontaler Stellung halten konnte. Anschließend wurde die Zeit bemessen, die verstrich, bis aus der Horizontalen eine Stellung des Armes von 45° erreicht war. Die Hantel war so langsam wie möglich zu senken. Dieser Versuch ermöglicht eine statische Energieprüfung, wobei eine Erholungsphase vereitelt wird. Dadurch wird eine Fehlerquelle ausgeschaltet.

Expander.

App.: 4-Feder-Expander.

Vers.: Er wird von der Vp alle 2 Sekunden in Brusthöhe bei gestreckten Armen bis zum Unvermögen gezogen. Bewertet wird die Zahl der Züge.

Nadeleinsteckprobe.

App.: In einem Holzbrett sind 100 Löcher von 3 mm Durchmesser in quadratischer Anordnung mit einer Tiefe von 1 cm gebohrt.

Vers.: Nach einem bestimmten Schema muß eine Nadel mit 95 cm Faden durch alle Löcher geführt werden. Bestimmt wird die Halbzeit und die total benötigte Zeit. Der Faden muß jeweils auf der rechten Seite angezogen werden.

Perlentest.

App.: 2 senkrecht gestellte Stahldrähte; daneben liegen in einem Behälter 100 Perlen.

Vers.: Diese 100 Perlen müssen Stück um Stück mit der gleichen Hand, möglichst schnell, aufgereiht werden. Notiert wird auch die Halbzeit (50 Perlen).

Abfangversuch.

App.: Glasröhre von 26 cm Länge und 8 mm Innendurchmesser. Ein Hartholzzylinder als Fallgewicht von 5 cm Länge und 6 mm Durchmesser.

Vers.: Die Vp faßt mit der einen Hand das Glasrohr; mit der anderen führt sie das Fallgewicht oben ein, läßt es durchfallen und fängt das Gewicht unten mit der gleichen Hand wieder auf. Diesen Akt wiederholt die Vp so schnell wie möglich 2 Minuten lang. Notiert wird auch die Anzahl nach einer Minute.

Gewichtsgefühlsprobe.

App.: Auf 2 Metallstangen sind gleiche Gewichte so angebracht, daß durch Drehen dieser Stangen das Gewicht verschoben werden kann. Auf der einen Seite wurde das Gewicht bei 150 g fixiert. Das andere Gewicht kann zwischen 100 und 200 g verschoben werden. Am entgegengesetzten Ende der beiden Handgriffe laufen die Stangen in Scharnieren, so daß durch Heben und Drehen des Handgriffs das Gewichtsgefühl kontrolliert werden kann. Der Apparat ist in einem Holzgehäuse montiert; der Vorgang kann nur durch den Versuchsleiter beobachtet werden.

Vers.: Der Vp ist es freigestellt, ein- oder zweihändig zu arbeiten. Bestimmt wurde die Genauigkeit in Gramm, die Anzahl der Zwischenkontrollen und die benötigte Zeit, bis die Vp das Gefühl des Gleichgewichts hatte.

Platyskopprobe.

App.: In einem schwarzen Feld sind 2 verstellbare Spalten von $2^1/_2$ cm Höhe im Abstand von 2 cm parallel angeordnet. Ein Spalt ist auf 5 mm eingestellt, während der andere durch Drehen einer Einstellschraube verstellt werden kann.

Vers.: Die Spaltenbreite muß beidseits gleich weit sein. Die Differenz kann in Hundertstelmillimeter abgelesen werden (Resultat).

Linealprobe.

App.: Metallenes Lineal mit 2 Arretierungen, wovon eine verschiebbar ist. Die arretierte Strecke mißt 10 cm.

Vers.: Vp streicht bei geschlossenen Augen mit einem Bleistift dem Lineal entlang zwischen den beiden Fixierpunkten hin und her. Damit die Vp das Distanzgefühl bekommt, läßt man sie 5mal „einfahren". Bis zum nächsten Befehl „frei fahren" bleibt die Bleistiftspitze an einem Fixierpunkt stehen. Unterdessen bewegt man das ganze Lineal um 1—2 mm senkrecht zur Strichrichtung, zugleich wird auch der mobile Fixierpunkt nach außen verschoben. Nun muß die Vp einmal „frei fahren". Alsdann wieder einmal „einfahren" und einmal „frei fahren" usw., so 5mal. Nachher läßt man die Vp wiederum „einfahren" und dann 5mal hintereinander „frei fahren". — Hierauf muß sie neuerdings „einfahren" und darauf 10mal „frei fahren". Unterdessen unterhält man sich mit der Vp und stellt ihr Fragen, um sie abzulenken. Man kann mit dieser Methode das manuelle Distanzgefühl und die Ablenkbarkeit prüfen. — Bewertet werden die negativen und die positiven Abweichungen und die Summe aller Abweichungen in cm.

Additionsprobe.

App.: In quadratischer Anordnung sind auf einem Blatt Papier die Zahlen 1—100 gedruckt. Es entstehen so 10×10 Zahlen.

Vers.: Es müssen 10×10 ein- bis zweistellige Zahlen addiert werden, und zwar 5 Reihen in der waagerechten und 5 in der senkrechten Richtung.

Für jede VR wurden andere, gleichwertige Zahlentafeln benutzt. Diese Probe wurde nach der benötigten Zeit und nach der Anzahl der richtigen Lösungen beurteilt. In diesen Versuchen wird vor allem die Beziehung zwischen körperlicher Ermüdung und geistiger Konzentration gezeigt. Die Sicherheit, d. h. die Richtigkeit des Rechnens hängt wesentlich von der Merkfähigkeit, die Schnelligkeit dagegen mehr vom Konzentrationsvermögen ab.

Zahlendeckprobe (Nummern legen).

App.: Auf einem Karton sind 100 quadratische Felder gezeichnet, die fortlaufend numeriert sind. In einer Schachtel liegen Kartonquadrate, die in die obigen Felder passen und ebenfalls numeriert sind.

Vers.: Die durcheinanderliegenden, bezifferten Quadrate müssen möglichst schnell und geordnet auf die oben bezeichneten entsprechenden Felder gelegt werden. Bewertet wird die benötigte Zeit.

Zahlenaufsuchprobe.

App.: In quadratischer Anordnung sind die Zahlen 1—100 gedruckt (ungeordnet). Hier wurden die Tabellen der „Großen Zahlenquadratprobe" nach Dr. R. W. Schulte, Berlin-Spandau, benutzt.

Vers.: Es wird die Zeit gemessen, welche die Vp braucht, um die Zahlen 100—80 oder 80—60 usw. der Reihe nach zu finden. 1—20 ist nicht zu verwenden, da die einstelligen Zahlen selbstverständlich auffallend schnell gefunden werden. Diese Probe gibt einen guten Hinweis auf die psychische Disposition (Überblick und Konzentration).

Um die Gedächtniswirkung auszuschalten, wurde mit den beiden Tabellen jeweils abgewechselt. Zwischen zwei VR war ja ohnehin ein Intervall von mindestens einem Tag.

Reaktionsgeschwindigkeit.

App.: Exner-Neuramoebiometer.

Vers.: Man befiehlt der Vp, bei Hören des von einer Stimmgabel erzeugten Tones auf einen Knopf zu drücken, der mit der Stimmgabel in solider Verbindung steht. Dadurch wird die Wellenlinie unterbrochen, die durch einen an der Stimmgabel befestigten Schreiber auf einem berußten Streifen erzeugt wird. Der Versuch verläuft folgendermaßen:

Auf einem Metallgestell wird eine Gleitschiene mit berußtem Streifen vom Versuchsleiter herausgezogen; dadurch wird die eingespannte Stimmgabel in Schwingung versetzt und ein Ton erzeugt. Die Schwingungen werden auf den Rußstreifen eingezeichnet. Im Moment, wo die Vp den Ton hört, wird durch deren Druck auf den Knopf die Wellenlinie unterbrochen. Aus der Zahl der Wellen und der Schwingungszahl der Stimmgabel ist die Reaktionszeit in $^1/_{100}$ Sekunden zu errechnen. Es wurde jeweils das Mittel von 3 Versuchen genommen.

Schießen.

App.: Zehnerscheiben auf 9 m Distanz; Armeekarabiner mit Lienhard-Einsatz.

Vers.: 5 Schüsse auf Zehnerscheibe in liegender Stellung. Bewertet wird die Punktzahl.

Pulskontrolle: Bestimmung der Frequenz nach der VR. Während der $^3/_4$—1 Stunde dauernden VR hat die Herzfrequenz die individuelle Norm erreicht.

Diese Versuchsreihen wurden unter folgenden Verhältnissen durchgeführt:

1. Ohne Ermüdung und ohne Medikament I
2. „ „ „ „ „ II } Mittel von 2 VR = o. E.
3. „ „ 24 Stunden nach Pervitin-VR ..... = Pv 24
4. Nach Ermüdung ohne Medikament ..... = E. o. M.
5. „ „ + Leertabletten ..... = Lt
6. „ „ + Coramin ..... = Cr
7. „ „ + Coffein ..... = Cf
8. „ „ + Pervitin ..... = Pv

Mit Hilfe der beiden ersten VR konnte der Übungsfortschritt ermittelt werden. Das arithmetische Mittel bildet den Wert ohne Ermüdung. Mittels Leertabletten wurde der Einfluß der Suggestion bestimmt.

Versuchsanordnung der kleinen Versuchsreihen.

Sie dienten zur Untersuchung der Pharmaka am Nichtermüdeten in bezug auf Handgeschicklichkeit, Vergleich von Geübten und Nichtgeübten (Übungsfortschritt), zur Bestimmung der Tagesdisposition, sowie der dispositionellen Schwankungen im Laufe des Tages; ferner wurde durch Verabreichung von Leertabletten die Suggestion bestimmt.

Versuchsanordnung der kleinen VR 2a und 2b.

Bei jeder VR wurden die 4 bei der großen VR beschriebenen Geschicklichkeitsproben der Reihe nach ohne Zeitverlust durchgeführt. Es handelt sich also um folgende Proben:

1. Einfädelprobe,
2. Perlentest,
3. Nadeleinsteckprobe,
4. Abfangversuch (20mal).

Die Apparate wurden nebeneinander aufgestellt.

Es wurden folgende VR durchgeführt:

1. Bestimmung der Tagesdisposition ..... (T. D.)
2. „ „ Suggestionswirkung mit Leertabletten .... (Lt)
3. „ „ Wirkung von Coramin ..... (Cr)
4. „ „ „ „ Coffein ..... (Cf)
5. „ „ „ „ Pervitin ..... (Pv)

Alle 5 VR wurden am gleichen Tage durchgeführt. Die Tagesdisposition mußte deshalb nur einmal bestimmt werden.

Zeitliche Anordnung der VR und Verabreichung der Medikamente.

Zuerst erfolgte morgens früh die Ermittlung der Tagesdispositionen. Alsdann Verabreichung der beiden Leertabletten. Eine Viertelstunde darauf die Lt-VR. Nachher Einnahme der beiden Tabletten Coramin R und eine halbe Stunde später die Cr-VR. Nach 2 Stunden Applikation von 0,2 g Coff. Natr. salicyl. und nach einem Intervall von 1—2 Stunden die Cf-VR. Nach weiteren 2—3 Stunden erfolgte die Pervitingabe von 6 mg. Die Pv-VR wurde 2—3 Stunden später durchgeführt.

Durch die getroffenen Verabreichungszeiten dürfte bei der angegebenen Dosierung praktisch keine gegenseitige Beeinflussung bestehen, denn das Coramin hat nach 4—5 Stunden kaum mehr eine intensivere Wirkung und beim Coffein dürfte die Wirkung nach 6—8 Stunden ebenfalls abgeklungen sein. Die Pervitinreihe folgte wegen der bekannt langen Wirkungszeit als letzte VR.

Messung der Reaktionszeit: Anschließend an jede VR wurde die Reaktionszeit mit dem Neuramoebiometer bestimmt.

Blutdruck: Vor und 2 Stunden nach Pervitineinnahme wurde der systolische und diastolische Druck mit einem Erkameter (Hg-Manometer) auskultatorisch gemessen.

Anordnung bei der kleinen VR 2c.

Die Versuchsanordnung ist die gleiche wie bei VR 2a. Der Zweck dieser VR besteht in der Ermittlung der dispositionellen Schwankungen im Laufe des Tages. Diese VR wurden morgens, vor dem Mittag- und Abendessen durchgeführt, den VR mit Cr, Cf und Pv entsprechend. Auch bei dieser VR wurde die Reaktionszeit gemessen und Morgen-, Mittag- und Abendwerte miteinander verglichen.

2. Resultate.

Allgemeines: In den folgenden Tabellen bedeuten die Zahlen mit negativem Vorzeichen Leistungsverminderung. Eine Pulsfrequenzverminderung ist als günstige Beeinflussung vermerkt. Bei den graphischen Darstellungen ist die Leistungssteigerung auf der Ordinate in Prozenten angegeben (Abb. 2 und 3); die Reaktionszeiten in Hundertstel-Sekunden (Abb. 1, 4, 5).

Basis für die Prozentzahlen der großen Versuchsreihen bildet die Versuchsreihe mit vorangegangener Ermüdung ohne Medikament. Basis bei den kleinen Versuchsreihen ist die Tagesposition.

Beurteilung des Übungsfortschrittes.

Der Übungsfortschritt spielt bei der Bewertung der Resultate eine bedeutende Rolle. Durch den ständigen Wechsel in der Reihenfolge der

Tabelle 1. Große Versuchsreihe am Ermüdeten. Mittelwerte von 10 Vp.

Versuchsreihe:	Ohne Ermüdung		Nach Ermüdung				
	o. M.	Pv 24	o. M.	Lt	Cr	Cf	Pv
Puls vor der VR	72,8	76,4	105,4	92,8	93,0	92,4	105,0
Dynamometer, kg	46,5	44,4	41,8	43,7	47,3	47,2	46,7
Hantelversuch, Sek.	40,0	36,1	29,0	29,8	40,3	37,4	39,3
Expander, Züge	34,8	35,1	23,3	32,3	45,0	35,6	40,7
Nadeleinsteckprobe, Sek.	224,1	228,7	242,3	243,6	21[illegible],2	227,2	227,3
Einfädelprobe, Sek.	107,9	108,1	112,7	117,2	98,0	105,6	104,2
Perlentest, Sek.	224,2	224,0	235,4	235,4	212,9	214,7	224,0
Abfangversuch, Zahl	71,9	68,2	65,9	65,8	74,7	72,9	72,3
Gewichtsgefühl, Zahl	10,0	13,2	12,5	12,2	11,1	13,2	12,7
„ Zeit	59,5	81,5	73,3	78,6	70,4	81,0	81,5
„ Resultat g	9,1	12,5	10,8	11,4	6,1	11,2	12,2
Platyskop-Probe, $^1/_{100}$ mm	8,0	10,1	14,8	10,2	6,4	11,5	6,8
Linealprobe, negativ, cm	5,7	4,1	5,0	2,7	4,5	3,4	2,7
„ positiv, cm	9,1	9,9	13,5	13,6	9,1	10,9	14,3
„ absolut, cm	14,8	14,0	18,5	16,3	13,6	14,3	17,0
Additionsprobe, Zeit Sek.	300,6	299,1	358,6	319,2	281,9	277,3	269,5
„ richtig	7,9	7,4	5,9	7,8	7,5	8,3	8,0
Zahlendeckprobe, Sek.	303,7	306,1	332,1	335,8	300,0	283,3	292,7
Zahlenaufsuchen, Sek.	199,0	268,0	228,0	213,0	173,0	222,0	188,0
Reaktionszeit, $^1/_{100}$ Sek.	13,9	14,2	16,6	15,6	13,4	9,4	12,7
Schießen, Punkte	40,3	37,5	34,4	37,6	38,9	41,5	39,1
Puls nach der VR	69,6	72,4	78,0	79,6	72,2	84,2	84,4

o. M. = ohne Medikament. Pv 24 = 24 Stunden nach der Pervitin-VR.

Leistungssteigerung in Prozenten.

Vergleichsbasis:	Tabelle 2. Ermüdungswerte ohne Medikamente				Tabelle 3. Suggestionswerte (Leertabletten)		
Versuchsreihe:	Lt	Cr	Cf	Pv	Cr	Cf	Pv
	%	%	%	%	%	%	%
Puls vor der VR	+ 12,0	+ 11,8	+ 12,3	+ 0,4	− 0,2	+ 0,4	− 13,0
Dynamometer	+ 4,5	+ 13,1	+ 12,9	+ 11,7	+ 8,2	+ 8,0	+ 6,9
Hantelversuch	− 2,8	+ 39,0	+ 29,0	+ 35,5	+ 35,0	+ 25,0	+ 32,0
Expander	+ 38,6	+ 93,0	+ 53,0	+ 75,0	+ 39,0	+ 10,2	+ 26,0
Nadeleinsteckprobe	− 0,5	+ 12,0	+ 6,3	+ 6,2	+ 12,5	+ 6,8	+ 6,7
Einfädelprobe	− 4,0	+ 13,0	− 6,3	− 7,5	− 16,4	− 9,9	+ 11,1
Perlentest	0	+ 9,6	+ 8,8	+ 4,9	+ 9,6	+ 8,8	+ 4,8
Abfangversuch	− 0,1	+ 13,4	+ 10,6	+ 9,7	+ 13,5	+ 10,8	+ 9,9
Gewichtsgefühl: Zahl	− 2,4	+ 10,2	− 5,6	− 1,6	+ 9,0	− 0,2	− 4,1
Zeit	− 7,2	+ 4,0	− 10,5	− 10,6	+ 10,4	− 3,0	− 3,7
Resultat	+ 5,3	+ 46,5	+ 1,8	− 7,0	+ 43,5	− 3,7	− 14,8
Platyskop-Probe	+ 24,3	+ 56,8	+ 22,3	+ 54,0	+ 37,2	− 12,7	+ 33,3
Linealprobe, negativ	+ 46,0	+ 10,0	+ 32,0	+ 46,0	− 67,0	− 26,0	0
positiv	+ 0,7	+ 33,1	− 20,0	− 5,1	+ 33,0	+ 19,0	− 6,0
absolut	+ 12,7	+ 26,9	+ 23,1	+ 8,6	+ 16,0	+ 12,0	− 5,0
Additionsprobe: Zeit	+ 11,0	+ 21,4	+ 22,6	+ 24,8	+ 11,7	+ 13,2	+ 15,6
richtig	+ 32,0	+ 27,0	+ 41,0	+ 36,0	− 3,8	+ 6,4	+ 2,6
Zahlendeckprobe	0,9	+ 9,8	− 14,8	+ 12,0	− 10,7	+ 15,6	+ 12,8
Zahlenaufsuchen	+ 6,6	+ 24,0	+ 2,6	+ 17,5	+ 18,8	− 4,2	+ 11,7
Reaktionszeit	+ 6,0	+ 19,3	+ 43,3	+ 23,5	+ 14,1	+ 39,7	+ 18,5
Schießen	+ 9,3	+ 13,1	+ 20,7	+ 13,7	+ 3,5	+ 10,4	+ 4,0
Puls nach der VR	− 2,0	+ 7,4	− 7,9	− 8,2	+ 9,3	− 5,8	− 6,0

Versuchsreihen wurde dieser Faktor ausgeglichen. Durch die getroffene Versuchsanordnung konnte der Übungsfortschritt einigermaßen zahlenmäßig festgestellt werden. Die beiden Versuchsreihen am Nichtermüdeten lagen in der Reihe jeweils weit auseinander.

Auf die 11 verwertbaren Proben ergibt sich eine durchschnittlich relativ hohe Leistungssteigerung von 8,3 %. Auf die verschiedenen Versuchsgruppen verteilt sich die Prozentzahl wie folgt:

Kraftproben	= 2 Proben	1,0 %
Geschicklichkeitsproben	= 4 „	11,3 %
Psychische Proben	= 5 „	8,8 %

Durch den regelmäßigen Wechsel der Reihenfolge darf der Übungsfaktor als weitgehend eliminiert betrachtet werden.

Beurteilung der Resultate.

Pulsfrequenz: Am Schluß der VR ohne Ermüdung und ohne Medikamente ist die Pulsfrequenz durchschnittlich etwas niedriger; es kann daraus auf nur geringe Anstrengung durch die Versuche geschlossen werden. Nach dem Ermüdungstraining ist die Pulszahl natürlich erhöht. Ohne Medikament wird im Verlauf der Versuchsreihe der Wert ohne Ermüdung nicht erreicht. Mit Coffein- oder Pervitinzugabe ist die Zahl etwa 20 % höher als der Ruhewert, ohne Medikamente oder mit Leertabletten etwa 12 %. Bemerkenswert ist die Coraminwirkung, die zu einer Pulsfrequenzabnahme führt. Es wird trotz der Ermüdung der Wert der Nichtermüdeten annähernd erreicht. Diese Pulsfrequenzverminderung nach Coramin ist bekannt. Wir können aus diesem Resultat schließen, daß unter Coraminwirkung ein durch körperliche Leistung belasteter Kreislauf rascher seine Norm wieder erreicht. Suggestive Wirkung durch Lt ist nach den Leertablettenversuchen auszuschließen (siehe Tabelle 1).

Kraftproben.

Tabelle 4. Leistungssteigerung bei den Kraftproben am Ermüdeten.

	Lt %	o. E. %	Cr %	Cf %	Pv %
Dynamometer	+ 4,5	+ 10,8	+ 13,1	+ 12,9	+ 11,7
Hantel	+ 2,8	+ 38,0	+ 39,0	+ 29,0	+ 35,5
Mittel	+ 3,6	+ 24,4	+ 26,1	+ 21.0	+ 23,6

Dynamometer nach Collin. Hier zeigt sich deutlich, daß durch jedes der 3 Pharmaka trotz Ermüdung der Wert des Nichtermüdeten erreicht wird.

Hantelversuch. Während beim Dynamometerversuch mit den Medikamenten eine Steigerung über den Ermüdungswert von durchschnittlich 12 % erreicht wird, können wir beim Hantelversuch einen solchen von etwa 35 % feststellen. Die Steigerungsmöglichkeit durch Medikamente

und der Wert der Leistung des Nichtermüdeten sind bei den beiden Kraftproben offenbar deshalb so unterschiedlich, weil das Mehrkampftraining die Muskelgruppen des Hantelversuches viel stärker ermüdet als die Handflexoren.

Die Expanderversuche sind in der graphischen Darstellung nicht mehr berücksichtigt, weil die einzelnen Resultate durch Unregelmäßigkeiten zweifelhaft werden und der Suggestionswert zu groß ist (38%). Wenn wir den Lt-Wert abziehen, so ergeben sich zwar auch bei diesen Versuchen Leistungssteigerungen durch die 3 Pharmaka (Cr 39%, Cf 10%, Pv 26%).

Geschicklichkeitsproben.

Tabelle 5. Leistungssteigerung bei den Geschicklichkeitsproben.

	Lt %	o. E. %	Cr %	Cf %	Pv %
Nadeleinsteckprobe	— 0,5	+ 7,5	+ 12,0	+ 6,3	+ 6,2
Einfädelprobe	— 4,0	+ 4,3	+ 13,0	+ 6,3	+ 7,5
Perlentest	0	+ 4,8	+ 9,6	+ 8,8	+ 4,9
Abfangversuch	— 0,1	+ 9,1	+ 13,1	+ 10,6	+ 9,7
Mittel der 4 Proben	— 1,1	+ 6,4	+ 12,0	+ 8,0	+ 7,1

Im allgemeinen ist bei diesen Proben darauf hinzuweisen, daß die Vp bei diesen Prüfungen, bei denen es auf die Geschwindigkeit ankommt, rasch ermüden. Eine Suggestionswirkung tritt bei allen 4 Prüfungen praktisch nicht ein; der Lt-Wert weicht nicht viel vom Wert nach Ermüdung ohne Medikament ab.

Die Nadeleinsteck- und Einfädelproben ergeben Leistungssteigerungen aller 3 Medikamente (siehe Tabelle 5). Auffallend ist, daß Coramin beinahe eine doppelt so große Leistungssteigerung erzielt, wie Coffein und Pervitin. Das hängt wohl damit zusammen, daß Cf und Pv die Großhirnrinde erregen und die Arbeit etwas hastiger ausführen lassen. Cr dagegen steigert die Leistung unter gleichzeitiger Beruhigung. Die oben erwähnte Pulsfrequenzverminderung unter Cr liegt in der gleichen Richtung. Die Einfädelprobe zeigte den größten Übungsfortschritt (vgl. Bemerkung über Übungsfortschritt, S. 281—283).

Der Perlentest und der Abfangversuch ergeben prinzipiell die gleichen Resultate wie die übrigen Geschicklichkeitsproben (siehe Tabelle 5). Das Messen der Zwischenzeiten hat nichts Wesentliches ergeben.

Die Gewichtsgefühlsprobe, der Platyskopversuch und die Linealprobe, die teils Geschicklichkeit, teils höhere psychische Funktionen prüfen, ergeben keine einwandfrei verwertbaren Resultate.

Proben auf vorwiegend psychische Leistungsfähigkeit. Die gestellten Aufgaben sind durchwegs einfach und setzen keine besonderen Kenntnisse voraus. Die Versuche sind vor allem ein Maß für das psychische

Konzentrationsvermögen. Daß die Tagesdisposition hineinspielt, ist bekannt; es sind aber trotzdem brauchbare Resultate erzielt worden.

Die Zahlenaufsuchprobe ist eine unzuverlässige Methode, weil es vom Zufall abhängen kann, daß man z. B. beim Aufsuchen einer einzigen Zahl viel Zeit verliert. Eine Auswertung dieser Resultate erscheint uns zwecklos.

Die verwertbaren Resultate sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Tabelle 6. Psychische Proben. Leistungssteigerung in Prozenten.

	Lt %	o. E. %	Cr %	Cf %	Pv %
Additionsprobe (Zeit)	+ 11,0	+ 16,3	+ 21,4	+ 22,6	+ 24,8
Additionsprobe (Richtigkeit).	+ 32,0	+ 34,0	+ 27,0	+ 41.0	+ 36,0
Zahlendeckprobe.....	— 0.9	+ 8,7	+ 9,8	+ 14,8	+ 12,0
Reaktionszeit.....	+ 6.0	+ 16,3	+ 19,3	+ 43,3	+ 23,5
Schießen.....	+ 9,3	+ 17,1	+ 13,1	+ 20,6	+ 13,7
Mittel von 5 Proben.....	+ 11,5	+ 18,5	+ 18,1	+ 28,5	+ 22,0

Die Additionsprobe zeigt im Vergleich zum Leistungswert ohne Ermüdung, daß unter Coffein und Pervitin etwas schneller und mit weniger Fehler gearbeitet wird. Coramin hatte einen geringeren Effekt, es beschleunigt wohl auch die Schnelligkeit des Addierens über den Wert ohne Ermüdung, aber die Zahl der richtigen Lösungen ist klein. Auf jeden Fall werden durch alle 3 Pharmaka die Ermüdungserscheinungen behoben. Die Suggestivwirkung durch Leertabletten ist auffallend stark. Die Resultate sind deshalb nicht restlos überzeugend.

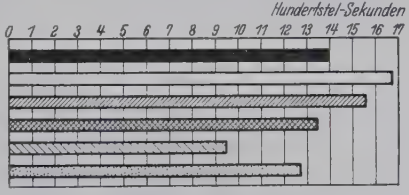


Abb. 1. Reaktionszeiten nach Ermüdung ohne Medikament. Das Übrige wie in Abb. 2.

Die Zahlendeckprobe ergibt eine Aufhebung der Ermüdung und Steigerung über den Wert ohne Ermüdung durch alle 3 Pharmaka. Prinzipiell das gleiche Resultat erhielten wir mit den Schießproben und mit der Messung der Reaktionszeiten (Tabelle 6, Abb. 1—3). Wir ziehen aus den Additions-, Zahlendeck-, Reaktionszeit- und Schießversuchen den wichtigen Schluß, daß Coffein diese psychischen Leistungen am stärksten fördert, und zwar wesentlich über den Wert des Nichtermüdeten hinaus. Coffein hebt also nicht nur die Ermüdung auf, sondern schafft noch eine zusätzliche Leistungssteigerung. Gleich, aber weniger stark, wirkt Pervitin. Noch etwas weniger stark Coramin (vgl. graphische Darstellungen Abb. 2 und 3). Bemerkenswert ist, daß von 30 Vp 26 ihre kürzeste Reaktionszeit mit Coffein erzielten. Durch Leertabletten sind die RZ nur geringgradig verkürzt. Die Suggestion spielt

also bei den sehr komplizierten Reflexvorgängen vom Gehörorgan über die Großhirnrinde zur Arm- und Handmuskulatur praktisch keine Rolle.

Versuchsreihe 24 Stunden nach dem Pervitinversuch.

Um nachzuweisen, ob Pervitin irgendwelche Nachwirkungen zeigt, wurde 24 Stunden nach der Pervitingabe bei den trainierenden Wettkämpfern eine weitere VR durchgeführt. Ein einwandfreier Effekt ist

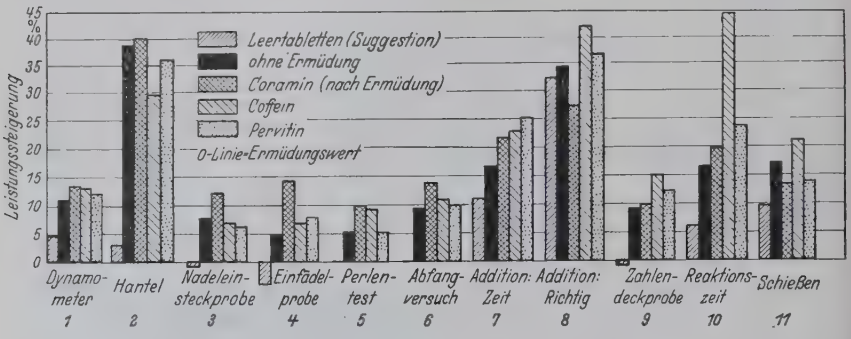


Abb. 2.

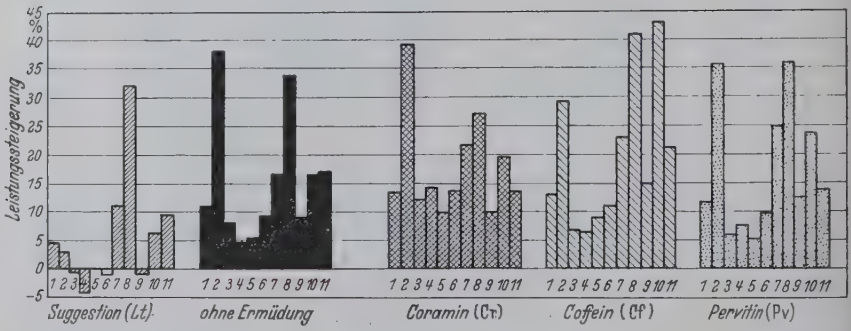


Abb. 3.

nicht nachgewiesen. Es haben sich, wie die folgenden Zahlen zeigen, geringgradige Minderleistungen ergeben, die aber ebensogut auf die Ermüdung des vortägigen Trainings zurückgeführt werden können, was vor allem an den Resultaten der Kraftproben zu erkennen ist.

Die Kraftproben zeigen eine Minderleistung von	.....	6,9%
Die Geschicklichkeitsproben „	„	1,8%
Die psychischen Proben „	„	3,3%

Als Vergleichsbasis dienten die Werte des Nichtermüdeten. Graphische Darstellung der Resultate (s. Abb. 2 und 3). Die 11 verwertbaren Prüfungen sind in den obigen graphischen Darstellungen

veranschaulicht. Alle positiven Werte bedeuten Leistungssteigerung in Prozenten im Vergleich zu den Ermüdungswerten ohne Zufuhr von Pharmaka (= 0-Linie).

Abb. 2: nach Proben geordnet. Abb. 3: nach den Pharmaka geordnet. Die Werte des Nichtermüdeten und die Suggestionswerte mit Leertabletten sind ebenfalls dargestellt.

Zusammenfassung der Resultate der großen Versuchsreihe.

Faßt man die verwertbaren 11 Proben zusammen, so ergeben sich folgende Resultate: Tab. 7.

	Lt %	o. E %	Cr %	Cf %	Pv %
Kraftproben	+ 3,6	+ 24,4	+ 26,1	+ 21,0	+ 23,6
Geschicklichkeitsproben	− 1,1	+ 6,4	+ 12,0	+ 8,0	+ 7,1
Psychische Proben	+ 11,5	+ 18,5	+ 18,1	+ 28,5	+ 22,0
Totaler Durchschnitt von 11 Proben — Basis: Ermüdung ohne Medikamente	+ 6,0	+ 15,1	+ 17,3	+ 19,7	+ 16,9
Totaler Durchschnitt von 11 Proben — Basis: Suggestionswert	+ −	+ 9,1	+ 11,3	+ 13,7	+ 10,9

Resultate der kleinen Versuchsreihen am Nichtermüdeten.

Allgemeines: Als Vergleichsbasis gilt der Wert der Tagesdisposition. Die Tagesdisposition konnte in diesen kurzen, etwa 10 Minuten dauernden Versuchen vor der Zufuhr der Lt und Medikamente bestimmt werden, ohne die Vp zu ermüden.

Tabelle 8. Resultate. Beurteilung der kleinen VR 2a und 2b.

	T. D. %	Lt %	Cr %	Cf %	Pv %
2a = geübte Vp	0	− 0,2	+ 3,8	+ 6,8	+ 5,7
2b = nichtgeübte Vp	0	+ 1,3	+ 4,2	+ 11,1	+ 11,1
Mittel von 20 Vp		+ 0,5	+ 4,0	+ 9,0	+ 8,4

Bei den kleinen VR handelt es sich ausschließlich um Geschicklichkeitsproben. Die vorstehende Tabelle zeigt, daß die geübten Vp mit Medikamenten einen geringeren Leistungszuwachs haben als die Nichtgeübten. Dieser Befund ist am einfachsten damit zu erklären, daß bei Nichtgeübten von einem niedrigeren Leistungsgrad ausgegangen wird als beim Geübten. Auch in diesen VR ist deutlich zu erkennen, daß Cf und Pv bei diesen Geschicklichkeitsproben am Nichtermüdeten stärker leistungssteigernd wirken als Coramin. Die entsprechende Tatsache haben wir auch bei der großen VR hervorgehoben.

Kleine Versuchsreihe 2c.

Die dispositionellen Schwankungen im Laufe des Tages sind in einer besonderen VR an 10 geübten Vp bestimmt worden.

Durchschnittliche Differenz zw. Morgen- und Mittags-VR = − 0,2%
„ „ „ Mittag- und Abend-VR = + 2,7%
„ „ „ Morgen- und Abend-VR = + 1,8%

Aus diesen Zahlen geht hervor, daß diese Schwankungen sehr gering sind. Die durch Verabreichung von Pharmaka erreichten Leistungssteigerungen sind deshalb als reell zu betrachten.

Reaktionszeiten bei den kleinen VR 2a, 2b und 2c.

Nach jeder VR wurde die Reaktionszeit bestimmt. Die Durchschnittswerte sind in der folgenden Tabelle zusammengefaßt und in Abb. 4 und 5 graphisch dargestellt.

Reaktionszeit ohne Ermüdung (Vp 11—30).

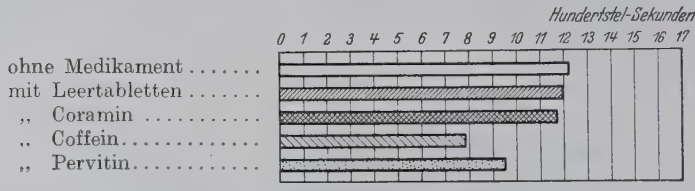


Abb. 4.

Disposition im Laufe des Tages (Vp 31—40).

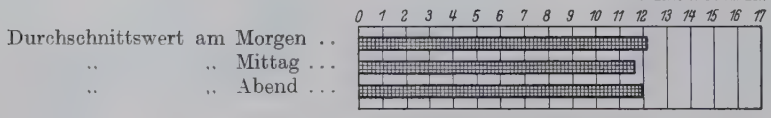


Abb. 5.

Daraus geht hervor, daß die Dispositionsschwankungen im Laufe des Tages unbedeutend sind.

Auch aus dieser Funktionsprüfung ist die stärkere Leistungssteigerung von Coffein und Pervitin gegenüber Coramin beim Nichtermüdeten ersichtlich. Coramin zeigt, wie aus der großen VR hervorgeht, nur beim Ermüdeten eine eindeutige Verkürzung der Reaktionszeit.

Blutdruck nach Pervitin.

Bei 20 Vp wurde vor und 2 Stunden nach oraler Verabreichung von 6 mg Pervitin der Blutdruck gemessen. Die trainierten Vp zeigten eine durchschnittliche Steigerung von 4 mm Hg. die Nichttrainierten von

8 mm Hg. Die maximale Steigerung war 18 mm. Eine der Vp zeigte aus unerklärlichen Gründen eine Drucksenkung von 130 auf 120 mm Hg. Die blutdrucksteigernde Wirkung von größeren Dosen Pervitin ist bekannt. Die hier nachgewiesene Blutdrucksteigerung nach 6 mg Pervitin ist unbedeutend.

Auffällig ist der Befund, daß die Blutdrucksteigerung des Trainierten nur halb so groß ist wie beim Nichttrainierten.

3. Allgemeine objektive Beobachtungen und subjektive Angaben.

Coramin: Subjektive Empfindungen sind hauptsächlich bei den Ermüdeten nach der großen VR geäußert worden wie: „Fühle mich kräftig, bin zielsicher, die Arbeit mit der Hantel und Expander geht viel leichter als sonst, habe ein wohliges, angenehmes Gefühl, fühle eine Lockerung in den Gelenken" usw.

Coffein: Die Vp der kleinen und großen VR geben an, daß sie sich besser konzentrieren können, schneller reagierten, aber etwas zittrig seien. Dem Versuchsleiter ist auch das Hasten bei einigen Vp aufgefallen. Bei den hastigen Bewegungen verlieren die Vp oft Zeit z. B. durch Fallenlassen des Fallgewichtes. Die Wirkungsdauer des Coffeins (0,2 g Coffein. natr. salicyl.) wird von den Vp meist mit 3—4 Stunden angegeben.

Pervitin: Die Angaben sind in der folgenden Tabelle ausführlich aufgeführt. Siehe Tab. 9.

Meist wurde nach Pervitineinnahme das Einschlafen verzögert. Das Wachliegen im Bett (durchschnittlich 2 Stunden) wird aber nicht als unangenehm empfunden. Zwei Vp konnten erst nach Einnahme einer Tablette Sedormid den Schlaf finden. Die Vp geben meist an, am folgenden Morgen gut ausgeruht erwacht zu sein. Die Wirkung von 6 mg Pervitin dauerte durchschnittlich 7 Stunden.

Bei den kleinen VR am Nichtermüdeten zeigten sich auffällige Zeichen gehobener Stimmung, die bei der großen VR am Ermüdeten fehlten. Die Nichtermüdeten sind nach 6 mg Pv gesprächig, optimistisch, arbeitsfreudig, haben Bewegungsdrang, sind motorisch unruhig. Bei einigen Vp fiel ein überlegenes Lächeln auf. Diese veränderte Mimik zeigte sich nach Verabreichung der Leertabletten und der anderen Pharmaka nicht. 2 Vp nahmen entgegen den Anordnungen Cf und Pv zu rasch aufeinander. Die bekannte potenzierende Wirkung von Cf + Pv äußerte sich in psychischer und motorischer Unruhe. Zwei weibliche Vp hoben speziell das Fehlen des Hungergefühls bei der nächsten Mahlzeit hervor.

4. Diskussion der Ergebnisse.

Coramin, Coffein und Pervitin heben die Ermüdungserscheinungen nach schwerem körperlichen Training auf, so daß Kraft-, Geschicklichkeitsproben und psychische Leistungen so gut ausgeführt werden, wie wenn

Tabelle 9. Beobachtungen mit Pervitin am Ermüdeten.

Vp Nr.	Pv-Einnahme Zeit	Äußerungen bei den Versuchen	Einschlafzeit	Subjektives Gefühl abends und Reaktion am folgenden Tag	Wach im Bett Std.
1	17^{30}	Angeregt, hastig, eigenartiges Gefühl	1^{00}	Müder als gewöhnlich, angeblich wegen Schlafdefizit	2 Std.
2	16^{30}	Die Arbeit gehe automatischer, rassiger	2^{00}	Etwas „gedrückt", es fehle ihm aber nichts	1 „
3	18^{00}	Geistig konzentriert, frisch wie frühmorgens	3^{00}	Klarstes Bewußtsein bis zum Einschlafen	5 „
4	19^{30}	Prima „im Schuß", Gefühl des Erhabenseins	24^{00}	Keine Reaktion, sofort eingeschlafen	0 „
5	17^{30}	Gefühl der Aufgeschlossenheit	1^{00}	Spürt weder vom Training noch vom Medikament etwas	3 „
6	19^{00}	Beschwingt im Kopf, aber klar im Denken	1^{00}	Morgens 1 Std. früher mit klarem Kopf aufgewacht	$^1/_2$ „
7	20^{30}	Arbeitslust trotz Training, gesprächig, klar	1^{00}	Keine Reaktion	1 „
8	17^{30}	Gut aufgelegt, kräftig (Gute psych. Proben)	24^{00}	Wirkung sei abgeklungen, nicht mehr so angeregt	2 „
9	18^{00}	Herzklopfen (Puls 120)	1^{00}	Abends konzentriert gearbeitet bis 24^{00}. Um 1^{00} 1 Sedormid eingenommen	1 „ + Sed.
10	18^{30}	Prima disponiert. (Gute Resultate bei den psych. und bei den Geschicklichkeitsproben)	3^{00}	Wieder normal disponiert, ohne Reaktion. Erst mit 1 Sedormid eingeschlafen	5 „ + Sed.

keine Ermüdung bestanden hätte. Alle 3 Stoffe sind deshalb als Pharmaka zur Bekämpfung der Ermüdung zu bezeichnen und in den verwendeten Dosierungen (0,8 g Coramin; 0,2 g Coff. natr. salicyl.; 3 mg Pervitin) anwendbar.

In der Wirkung auf bestimmte Leistungen haben sich zwischen den 3 Stoffen theoretisch wie praktisch wichtige Unterschiede ergeben:

Coramin zeigt nur beim Ermüdeten auffällige Leistungssteigerungen. Diese tritt am deutlichsten bei den Geschicklichkeitsproben des Ermüdeten in Erscheinung und übertrifft in der Regel diejenige von Coffein und Pervitin. Diese günstige Wirkung des Coramins ist teilweise auf seine beruhigende Wirkung zurückzuführen, die sich auch in auffällig rascher Pulsverminderung nach Arbeit äußert. Die Geschicklichkeitsproben werden damit zielsicherer ausgeführt. Die psychischen Leistungen werden durch Coramin am Ermüdeten und Nichtermüdeten weniger oder nicht

gefördert (im Gegensatz zu Coffein und Pervitin). Wir schreiben deshalb dem Coramin eine bevorzugt günstige Wirkung auf körperliche Ermüdungserscheinungen zu und glauben, daß Coramin die Ermüdung durch Angriff an Vasomotoren- und an subcorticalen Zentren aufhebt.

Coffein fällt durch seine überragende Leistungssteigerung auf psychischem Gebiet auf (s. graphische Darstellung Abb. 2 und 3, Tabelle 6 und 7). Dem Coffein ist eine Behebung der Ermüdungserscheinungen vorwiegend durch Erregbarkeitssteigerung der Großhirnrinde zuzuschreiben. Daneben besitzt Coffein bekanntlich Angriffspunkte am Vasomotorenzentrum und im Muskelstoffwechsel bzw. der myoneuralen Verbindung der Muskelendplatte (zit. nach Staub). Durch diese mehrfachen verschiedenen Angriffspunkte erhält das Coffein als leistungssteigerndes und Ermüdungserscheinungen aufhebendes Mittel eine bevorzugte Stellung.

Pervitin. Die Leistungssteigerung durch Pervitin liegt ebenfalls vorwiegend auf psychischem Gebiet (s. graphische Darstellung). Bei den angewandten Dosierungsverhältnissen (Cf : Pv = 95 : 6) entspricht die Wirkung des Pervitins ungefähr derjenigen des Coffeins. Pervitin wirkt aber stärker und länger als Coffein. Aus unseren Versuchen können wir schließen, daß für die gleiche Leistung auf psychischem Gebiet rund 10mal mehr Coffein benötigt wird als Pervitin.

Die Versuchsresultate lassen den praktisch wichtigen Schluß zu: Coramin ist indiciert bei körperlicher Ermüdung, Pervitin bei psychischer Ermüdung. Coffein ist sowohl bei psychischer als auch bei körperlicher Ermüdung wirksam.

Zusammenfassung.

An 10 Versuchspersonen im Mehrkampftraining und 10 weiteren gesunden Vp wurden vergleichsweise Coramin, Coffein und Pervitin auf ihre Leistungssteigerung bei Kraft-, Geschicklichkeits- und psychischen Proben untersucht. Die Substanzen wurden oral in Mengen von 0,8 g Coramin; 0,2 g Coffein. natr. salicyl.; 6 mg Pervitin verabreicht. Alle 3 Pharmaka führten zu Leistungssteigerungen und Aufhebung der Ermüdungserscheinungen. Aus den Versuchsresultaten konnten spezielle Indikationsbereiche für diese Substanzen angegeben werden. Die Angriffspunkte sind diskutiert.

Die vorliegende Arbeit wurde auf Vorschlag und unter Leitung von Prof. Staub ausgeführt.

Literatur.

Die Literaturangaben über Coffein sind in der Monographie „Kaffee und Koffein" von O. Eichler, Berlin, Springer, 1938, diejenige über Coramin im Artikel von Hildebrandt „Handbuch der exper. Pharmakologie, Ergänzungswerk", 5. Band und in „Exper. Ergebnisse und klinische Erfahrungen mit Coramin „Ciba", Ges. für chemische Industrie in Basel zu finden.

Die Literaturübersicht von Pervitin steht auf Anfrage zur Verfügung.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Péter-Pázmány-Universität Budapest.

Über Beeinflussung der Wirkung von Adrenalin auf den Gasstoffwechsel durch die Schilddrüse und Sympathicolytica.

Von

B. v. Issekutz und **M. v. Harangozó-Oroszy.**

(Eingegangen am 6. Dezember 1941.)

Die Wirkung von Adrenalin auf den Gasstoffwechsel bildete den Gegenstand bereits zahlreicher Untersuchungen[1]. Die Verfasser, die den Stoffwechsel im Laufe von 1—2 Stunden dauernder Perioden bestimmten, beobachteten im allgemeinen eine erhebliche Steigerung durch meistens subcutan und in ziemlich großen Dosen gegebenes Adrenalin. Dagegen stellten Hári[2] u. a., die den O_2-Verbrauch in Perioden von 5—10 Minuten maßen, nach meistens intravenös gegebenem Adrenalin eine mehrere Minuten währende Stoffwechselverminderung fest, die öfters, jedoch nicht immer, von einer Steigerung abgelöst wurde. Nach Griffith, Emery und Lockwood[3] verursacht aber intravenös gegebenes Adrenalin bei Katzen ohne jegliche vorhergehende Verminderung eine 6—16%ige Steigerung des Stoffwechsels, mit der zugleich Blutzucker, RQ. und Atmungsvolumen zunehmen. Zuletzt untersuchten Antal und Schleinzeer[4] die Wirkung des Adrenalins mittels Reinschen Apparats, der jede Stoffwechseländerung rasch registriert. Bei ihren Versuchen beobachteten sie stets eine mehrere Minuten, manchmal 1—2 Stunden anhaltende Stoffwechselabnahme, der bei Ratten in der Regel eine Stoffwechselzunahme folgte. Bei Katzen, Meerschweinchen, Kaninchen fehlt diese zweite Phase des öfteren. Antal und Schleinzeer halten, unter Anlehnung an die Feststellung Trendelenburgs[5], nach welcher Adrenalin sehr rasch aus dem Blute verschwindet, lediglich die Stoffwechselverminderung für eine unmittelbare Wirkung des Adrenalins, nicht jedoch die manchmal auch stundenlang andauernde Steigerung. Allein das rasche Verschwinden des Adrenalins aus dem Blute wird offenbar nicht durch die schnelle Oxydation verursacht, denn diese wird bekanntlich vom Blute selbst eher behindert, vielmehr wird das Adrenalin von den Geweben aufgenommen. Die Durchströmungsversuche von Pak[6] erweisen, daß der

[1] Literatur siehe: Trendelenburg, P.: Die Hormone. I. Bd., S. 296. Berlin 1929. — [2] Hári, P.: Biochem. Z. **38**, 23 (1912). — [3] Griffith, F. R., et Soc. Amer. J. Physiol. **128**, 280 (1939); **129**, 164 (1940); **130**, 197 (1940). — [4] Antal, I., u. R. Schleinzeer: Pflügers Arch. **244**, 499 (1941). — [5] Trendelenburg, P.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **79**, 151, 154 (1916). — [6] Pak, Ch.: Ebenda **111**, 43 (1926).

Adrenalinzerfall in der Extremitätmuskulatur nur langsam vor sich geht, denn sobald der Adrenalingehalt der Gewebe mit der Durchströmungsflüssigkeit ins Gleichgewicht kommt, fällt die Adrenalinkonzentration dieser letzteren nicht während der Durchströmung. Scheinbar spaltet nur die Leber Adrenalin, denn in der sie durchströmenden Flüssigkeit nimmt der Adrenalingehalt stetig ab.

Somit besteht die Wahrscheinlichkeit, daß Adrenalin, welches die Blutbahn bereits verlassen hat, in den Geweben noch einige Zeit wirksam bleibt und den Stoffwechsel steigert. Laut den auf verschiedene Weise durchgeführten Untersuchungen von Ahlgren[7], Abderhalden und Gellhorn[8], Euler[9] und a. steigert Adrenalin die Oxydation von Muskel- bzw. Leber- bzw. Hautschnitten und -brei. Dagegen beobachteten Grafe[10], Reinwein und Singer[11] in Gewebeschnitten nicht die steigernde Wirkung des Adrenalins, und nach Ellinger[12] und Yamakita[13] hebt dieses nicht die Atmung der roten Blutkörperchen.

Obgleich die an isolierten Zellen und Gewebsstücken vorgenommenen Untersuchungen kein einheitliches Ergebnis hatten, so berechtigt dennoch die überwiegend festgestellte Oxydationssteigerung auch die zweite Phase der Adrenalinwirkung, nämlich die Stoffwechselsteigerung, als unmittelbare Wirkung anzusehen.

In ähnlicher Weise gegensätzlich sind die experimentellen Ergebnisse hinsichtlich des Synergismus von Schilddrüsenhormon und Adrenalin. Während Asher[14] und Mitarbeiter in zahlreichen Arbeiten den Beweis erbrachten, daß die Schilddrüse jedes sympathisch innervierte Organ für Adrenalinwirkung empfindlich macht, vermochten dagegen andere Verfasser diese Ergebnisse nicht zu bestätigen[15]. Bezüglich des Stoffwechsels stellte zuerst Nakayama[16] Untersuchungen an, und zwar an Ratten, welchen er subcutan oder intramuskulär 0,1—0,3 mg Adrenalin gab und den Stoffwechsel nach der Haldane-Methode in dreistündigen Perioden maß. Adrenalin steigert den Stoffwechsel thyreoidektomierter Tiere in weitaus geringerem Maße als den normaler, wogegen es in mit Schilddrüse gefütterten Tieren erheblich stärker wirkte.

Neuerdings haben Asher und Ruetsch[17] festgestellt, daß Adrenalin, während es normalen Kaninchen in einer Verdünnung von 1 : 80 Millionen intramuskulär gegeben, die Muskeltemperatur — wenn auch nur in geringem Maße — erhöht, diese Wirkung nach Schilddrüsenentfernung nur

---

[7] Ahlgren, G.: Skand. Arch. Physiol. **46**, 467, 471 (1926). — [8] Abderhalden, E., u. E. Gellhorn: Pflügers Arch. **212**, 523 (1926). — [9] v. Euler, U.: Ebenda **217**, 699 (1927). — [10] Gräfe, E.: Dtsch. med. Wschr. **51**, 640 (1925). — [11] Reinwein, H., u. W. Singer: Biochem. Z. **197**, 152 (1928). — [12] Ellinger, Ph.: Z. physiol. Chem. **119**, 11 (1922). — [13] Jamakita, M.: Tohoku J. exper. Med. **3**, 567 (1922). — [14] Asher, L., u. Mitarbeiter: Z. Biol. **55**, 83 (1911); Dtsch. med. Wschr. **1916**, Nr. 34. — [15] Literatur: Trendelenburg, P.: Die Hormone, I. Bd., S. 335; II. Bd., S. 218. Berlin 1929, 1934. — [16] Nakayama: Biochem. Z. **155**, 387 (1925). — [17] Asher, L., u. Fr. Ruetsch: Z. Biol. **100**, 1 (1940).

bei 1 : 30—50 Millionen hervorbringt. Nach Friedgood und Cannon[18] erhöhen Pilocarpin und Adrenalin die Wirkung des Thyreotrophormons, ersteres offenbar durch Adrenalinausschüttung der Nebenniere.

Die Schilddrüse beeinflußt auch die Wirkung andrer Stoffe. So erhöht z. B. nach Abelin[19] das Schilddrüsenhormon stark die stoffwechselsteigernde Wirkung von Tyramin bzw. Phenyläthylamin; Allwal[20] wieder wies nach, daß Dinitrophenol bei thyreoidektomierten Kaninchen schwächer wirkt als in normalen, und daß es bei thyroxinierten Tieren eine besonders starke Wirkung hat. Allwal und Scheff-Pfeiffer[21] ermittelten, daß die durchströmte Gliedmasse mit Schilddrüse gefütterter Hunde — obgleich die Extremität keinen erhöhten Sauerstoffverbrauch zeigt — für die Wirkung von Dinitrophenol und Methylenblau sensibilisiert ist; diese verursachen eine sehr große Oxydationssteigerung. Nach Glaubach und Pick[22] steigern Tetrahydro-β-naphthylamin und Cocain im thyroxinierten Tiere in erheblicherem Maße die Körpertemperatur als im normalen. Nach Okumura[23] ist auch die Stoffwechselwirkung eine stärkere.

Dementgegen fanden Abderhalden und Gellhorn[24] keinen Unterschied in der Adrenalinwirkung auf den Stoffwechsel thyreopriver und normaler Mäuse. Kuriyama[25] und Sandiford[26] stellten im Menschen fest, daß Hypo- oder Hyperthyreodismus die Wirkung von Adrenalin auf Blutzucker und Stoffwechsel nicht beeinflussen.

Bei unsern Versuchen verwandten wir die in der folgenden Veröffentlichung (S. 308) beschriebene Apparatur, die es ermöglicht den Sauerstoffverbrauch der Tiere in ganz kurzen Perioden zu messen. Sie hat den unzweifelhaften Vorzug, leicht handhabbar zu sein, und daß es möglich ist, gleichzeitig mit 3 Apparaten zu arbeiten, was eine rasche und wenig mühevolle Durchführung der Versuche gestattet.

Leider ist die CO_2-Bestimmung mit unserm Apparat nicht möglich, weshalb wir die RQ.-Änderungen nicht zu beobachten vermochten. Diesbezüglich bieten indessen die Untersuchungen von Nakayama sowie die von Antal und Schleinzeer hinreichende Aufklärung. Nach letzteren wächst der RQ. in der ersten Phase der Adrenalinwirkung (Stoffwechselverminderung); zur Zeit der Stoffwechselzunahme beobachtete Nakayama ebenfalls häufig eine geringe Steigerung des RQ.

Wir führten unsere Versuche an mit Urethan (0,1 g/100 g) narkotisierten Ratten durch. Nachdem wir in 5—6 je 10 Minuten währenden

[18] Friedgood, H. B., u. W. B. Cannon: Endocrinology **26**, 142 (1940). — [19] Abelin, J.: Biochem. Z. **129**, 1 (1922). — [20] Alwall, Nils: Skand. Arch. Physiol. **72**, Suppl. (1935); Acta med. Scand. **101**, S. 290. — [21] Alwall, N., u. J. Scheff-Pfeiffer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **184**, 296 (1937). — [22] Glaubach, S., u. E. P. Pick: Ebenda **151**, 341 (1930). — [23] Okumura, R.: Fol. pharmacol. jap. **27**, 92 (1939). — [24] Abderhalden, E., u. E. Gellhorn: Pflügers Arch. **210**, 462 (1926). — [25] Kuriyama, S.: Amer. J. Physiol. **43**, 481 (1917). — [26] Sandiford, J.: Ebenda **51**, 407 (1920).

Perioden den Sauerstoffverbrauch der Tiere bestimmten, injezierten wir 0,2 ccm 1 : 40000 oder 1 : 20000 verdünnte Adrenalinlösung intraperitoneal ein. Dies konnte ohne Auseinandernahme des Apparates durch einen Hahn hindurch erfolgen, der durch ein enges Gummiröhrchen mit der in den Bauch des Tieres gestochenen Nadel in Verbindung stand. Auf diese Weise vermochten wir den Stoffwechsel ohne Unterbrechung dauernd zu messen. Die Injektionen wiederholten wir fünfmal in Zwischenräumen von je 10 Minuten, so daß die Tiere insgesamt 1 ccm Adrenalinlösung erhielten. Danach maßen wir den Stoffwechsel noch während 1—2 Stunden, bis dieser auf seinen normalen Wert zurückging.

Tabelle 1 enthält 23 solcher Versuche, in denen die Adrenalindosis zwischen $5 \times 2.58\,\gamma$ und $43{,}5\,\gamma/100$ g wechselte. Die Versuche sind nach der Größe der Dosen geordnet.

Mit Ausnahme eines einzigen Falles beobachteten wir in allen Versuchen nach der ersten, sogar auch nach der zweiten Injektion eine Verminderung des Stoffwechsels, und erst hinterher begann dieser zuzunehmen. Dosen, die kleiner waren als $5 \times 5\,\gamma/100$ g, verursachten lediglich in 6 von 14 Fällen eine Stoffwechselzunahme, der jedoch in allen Fällen eine bedeutende Verminderung voraufging, so daß die Zunahme im Mittelwert nur 5,4 %, die ihr voraufgegangene Abnahme aber 13,7 % betrug.

Die über $5 \times 5{,}5\,\gamma/100$ g großen Dosen verursachten in allen Fällen eine Stoffwechselzunahme sehr großen Ausmaßes, der gleichfalls eine oft erhebliche Abnahme voraufging. Mit dem weiteren Steigern ($16—43\,\gamma/100$ g) der Adrenalingabe ging keine weitere Verstärkung der Wirkung einher, so daß die mehr als $5 \times 5.5\,\gamma/100$ g großen Dosen im Mittelwert durchschnittlich 14.4 % Abnahme und darauffolgende 62,8 % Steigerung bewirkten.

Es ist interessant, daß die Abnahme des Sauerstoffverbrauchs lediglich 10—20 Minuten anhält, und die Wiederholung der Adrenalindosis keine weitere Abnahme, vielmehr eine sofortige Steigerung hervorbringt. Als ob anfänglich diejenigen Wirkungen des Adrenalins zur Geltung kämen, die der Stoffwechselsteigerung entgegenarbeiten. Eine solche ist die Gefäßverengerung, welche die Sauerstoffversorgung der Zellen behindert, weiterhin die Verminderung der Atmung und der Darmbewegung. Späterhin werden diese mittelbaren Einflüsse durch die unmittelbare stoffwechselsteigernde Wirkung des Adrenalins ausgeglichen. Möglicherweise treten auch hier solche Verhältnisse ein wie im arbeitenden Muskel, in welchem nach den grundlegenden Untersuchungen Reins [27] Adrenalin, im Gegensatz zum ruhenden Muskel, keine Gefäßverengerung hervorbringt. Vielleicht wird letztere auch durch die Stoffwechselsteigerung beseitigt und ihr neueres Auftreten durch diese behindert. Hierauf deutet die Feststellung

[27] Rein, H.: Verh. dtsch. Ges. Kreisl.forsch. 1937, S. 27.

Tabelle 1.

Nr.	Tiergewicht g	O_2-Verbrauch, norm. in 10′	Adrenalin-Dosis in γ/100 g	O_2-Verbrauch nach Adrenalin										Abnahme	Zunahme
				I.	II.	III.	IV.	V. Inj.							
				10′	20′	30′	40′	50′	60′	70′	80′	90′*	100′	%	%
33	194	42,2	5 × 2,58	35,5	35,1	37,1	37,6	37,1	41,3	41,8	41,5	41,3	41,5	16,8	-
43	190	31,9	2,64	28,9	27,9	27,7	26,5	25,6	26,2	26,8	26,2	25,7	26,7	19,5	
11	180	34,0	2,78	27,1	32,8	35,2	34,8	35,8	37,2	37,6	37,7	37,0		20,1	10,5
8	130	22,8	3,08	20,4	20,8	20,9	21,6	22,1	22,8	23,0	23,4	23,4	23,9	10,5	—
39	155	36,2	3,22	34,1	39,6	41,8	46,4	47,6	47,4	46,7	46,6	44,4	40,0	5,8	31,7
19	155	35,1	3,22	33,4	33,5	34,1	34,1	34,7	35,6	34,3				4,9	—
12	149	30,3	3,35	28,4	32,7	32,5	31,9	30,6	31,6	30,9	31,7	31,6		6,3	8,2
45	145	30,5	3,45	29,3	27,4	27,2	27,2	28,5	28,5	28,4	29,6			10,8	—
44	140	30,6	3,57	26,7	25,4	26,4	28,2	27,4	29,5	27,9	29,3	32,8	33,8	17,0	8,6
20	139	26,5	3,60	23,9	25,6	27,2	26,1	27,4	28,1	26,8				7,8	2,6
10	120	34,6	4,16	30,0	28,5	29,9	30,7	—	29,1	27,4	29,7	30,6		17,6	—
9	102	38,2	4,90	36,8	36,9	38,8	38,6	39,8	37,4	39,6	38,2			3,7	—
46	100	27,7	5,00	24,0	20,8	20,6	18,6	18,5	18,6	16,8	18,5	18,5	18,2	33,2	-
40	98	19,9	5,10	17,9	16,3	17,9	20,6	22,2	23,6	22,3	20,8	20,6	20,6	18,1	14,5
			5 × 3,6											13,7	5,4
11	180	37,0	5 × 5,56	33,3	38,7	44,0	44,7	53,5	48,6	44,7	42,6	41,0	40,4	10,0	57,14
19	155	32,8	6,44	31,6	33,0	33,8	35,3	37,1	42,5	41,8	41,8	38,3	38,2	3,7	30,0
12	149	32,3	6,70	29,2	31,5	48,9	59,2	—	52,3					9,6	95,5
10	120	29,0	7,20	33,7	42,5	57,5	57,2	—	55,7	45,2	33,6	34,1	33,2	—	65,6
7	110	36,4	9,10	34,5	30,3	48,5	54,0	53,1	51,7	51,7	46,8	38,4	31,5	16,8	48,6
9	102	38,9	9,80	35,1	36,4	48,9	57,2	55,5	55,5	52,1	41,9	39,1		9.8	48,8
6	120	38,9	16,70	32,1	24,3	25,2	37,0	44,0	50,0	53,9	56,0	56,1	56,1	37,6	45,4
4	93	26,2	43,00	20,6	20,0	27,9	35,1	37,4	45,0	51,0	56,7	50,9	43	23,4	116,0
3	92	26,5	43,50	22,6	25,1	28,2	32,8	40,4	42,0	41,5	37,5	34,5	33,7	18,5	58,5
		33,1	5 × 16,3	30,3	31,3	40,3	45,8	45,8	49,2	47,7	44,6	41,5	39,4	14,4	62,8

Tabelle 2.

Nr.	Tiergewicht vor/nach dem Thyroxin	Norm. O_2-Verbrauch in 10′	Thyroxin γ/100 g	O_2-Verbrauch in 10′ nach Thyroxin	Adrenalin-Dosis γ/100 g	O_2-Verbrauch nach Adrenalin										Abnahme	Zunahme
						I.	II.	III.	IV.	V. Inj.							
						10′	20′	30′	40′	50′	60′	70′	80′	90′	100′	%	%
36	170/148	40,0	3 × 40	42,2	5 × 2,25	42,5	41,4	40,8	39,3	40,0	39,0	38,3	38,5			9,3	–
37	175/142	40,7	3 × 40	51,5	2,35	44,5	52,9	51,5	51,5	55,0	53,0	50,2	47,8	48,5	45,0	13,6	6,8
14	210/205	37,2	3 × 40	41,7	2,45	45,6	47,3	47,2	45,6	45,2	44,2	45,0	46,2	45,1	44,3	–	11,7
30	190/179	44,0	3 × 40	47,1	2,71	41,9	42,6	43,9	44,5	44,5	45,8	44,5	46,4	46,2	46,0	11,0	–
16	170/172	38,7	2 × 40	26,9	2,80	35,5	34,1	35,2	34,8	34,2	32,5	31,6	33,6	33,5	33,0	–	35,2
24	180/160	39,9	2 × 40	36,9	2,82	34,5	35,0	40,0	40,0	38,1	38,6					6,9	8,4
22	135/130	38,1	3 × 40	40,6	2,85	39,1	39,3	40,0	42,7	40,4	40,7	39,3	40,0			–	5,4
26	162/160	36,4	3 × 40	40,0	3,10	38,9	39,7	41,0	41,8							2,7	4,5
28	174/160	39,7	2 × 40	44,0	3,10	41,5	52,1	47,8	49,5	53,0	53,1	55,8	53,9	54,5	58,6	5,4	41,1
32	160/162	38,4	4 × 40	53,5	3,10	52,0	53,1	53,2	52,8	51,2	55,4	55,0	55,4	52,1	50,5	2,8	3,6
15	160/158	40,0	2 × 40	52,3	3,15	51,8	52,1	59,2	57,7	60,8	57,7	59,0	57,8	56,2	56,2	0,96	16,3
29	165/150	42,5	3 × 40	51,6	3,20	49,2	50,6	52,2	55,0	58,1	58,1	55,2	55,2	55,2	57,0	4,65	12,6
35	150/147	36,7	3 × 40	42,5	3,40	36,4	36,0	34,7	35,3	36,0	34,3	34,5	36,0	40,0	48,0	19,3	12,9
13	145/145	39,2	2 × 40	44,3	3,45	42,8	46,6	50,3	41,7	50,9	50,9	48,2	49,2	47,7	46,3	3,4	14,9
25	155/140	36,4	3 × 40	46,8	3,55	53,3	50,0	55,8	55,0	52,2	51,0	48,9	47,5			–	19,2
31	140/140	39,6	4 × 40	46,8	3,55	46,6	47,8	50,6	52,5	49,8	50,0	55,5	51,0	53,4	52,5		18,5
14	210/205	37,2	3 × 40	41,6	4,90	47,2	49,4	53,2	58,2	61,6	65,5	67,6	53,7	50,5	49,0	–	68,9
				Mittelwert:	5 × 3,1										Mittelwert:	5,8	16,45
21	95/90	32,6	3 × 40	33,3	5 × 5,50	30,0	34,6	36,4	40,0	39,7	39,2	34,6	32,7			8,1	20,1
22				38,0	5,60	36,0	45,6	45,3	53,7	54,2	53,2	51,7	57,7	42,0	39,4	–	16,6
24				41,3	5,60	46,4	60,4	62,2	61,8	36,1	34,2	31,6	+			–	70,4
26				38,4	6,20	48,0	48,1	41,85	35,6	28,0	+					–	25,2
36				34,2	6,76	38,6	38,2	38,1	43,6	48,2	50,6	49,6	49,6	51,2	53,0		55,0
13				50,6	6,90	53,1	61,7	71,7	76,6	85,5	79,4	69,5	69,5	69,5	65,3		70,5
25				44,6	6,10	62,2	63,5	58,2	55,0	48,4	47,0	44,2	42,1	39,5		–	19,9
21				36,4	11,0	28,9	40,4	47,2	55,5	62,3	57,3	54,1	54,0	52,0	51,2	20,3	43,8
			Mittelwert:	39,6	5 × 6,8	42,9	49,0	50,1	52,7	50,3	51,5	47,9	50,9	50,8	52,2	3,55	40,1

von Mertens und Rein[28], daß Adrenalin den Muskelstoffwechsel nur dann steigert, wenn es die Blutgefäße nicht allzusehr verengert.

Die stoffwechselerhöhende Wirkung der weniger als 5 γ/100 g kleinen Dosen ist zur Bekämpfung der Gefäßverengerung durch Adrenalin vielfach allzu schwach, weshalb hier oft die Stoffwechselverminderung für sich allein zur Geltung kommt. Die Wirkung dieser kleinen Dosen ändert sich jedoch, wenn der Organismus mittels Thyroxinbehandlung für die Adrenalinwirkung sensibilisiert ist.

In Tabelle 2 sind unsere Versuche zusammengefaßt, bei denen wir die Ratten voraufgehend mit Thyroxin behandelten. Diese Versuche wurden parallel den vorhergehenden im Frühling 1940 durchgeführt. Nachdem wir den Ruhestoffwechsel der Ratten mehrere Male bestimmten, gaben wir ihnen während 2—4 Tagen täglich 40 γ/100 g Thyroxin. Das bewirkte mit Ausnahme eines einzigen Falles stets eine bedeutende Stoffwechselzunahme, die auch nach Urethannarkose auf hohem Wert verblieb. Dann gaben wir Adrenalin intraperitoneal ganz in der gleichen Weise wie den normalen Ratten. Beim Vergleichen der beiden Versuchsserien erweist es sich, daß die stoffwechselvermindernde Wirkung des Adrenalins hier weitaus weniger zur Geltung kam. Die Gaben von 2—5 γ/100 g verursachten nur in 6 von 17 Versuchen eine mehr als 5%ige Stoffwechselabnahme; bei den übrigen stieg der Stoffwechsel bereits während der ersten beiden Perioden an, oder aber er verminderte sich lediglich in einem innerhalb des Versuchsfehlers liegenden Ausmaße. Schon auch solch kleine Gaben hatten eine erheblich ausgeprägtere stoffwechselsteigernde Wirkung als in normalen Tieren. Von 17 Versuchen blieb diese Wirkung nur in 2 Versuchen völlig aus, wogegen dies bei normalen Ratten in 9 von 14 Versuchen der Fall war. Beim Errechnen der Mittelwerte ergibt sich, daß bei 14 normalen Ratten Gaben von durchschnittlich $5 \times 3{,}6$ γ/100 g in 8 Fällen nur eine Stoffwechselabnahme hervorriefen und nur in 5 Fällen eine Zunahme; der Mittelwert dieser letzteren ist 5,4%. Die mit Thyroxin behandelten 17 Ratten erhielten $5 \times 3{,}1$ γ/100 g, was in 13 Fällen eine erhebliche Stoffwechselsteigerung hervorbrachte, deren Mittelwert 16,45% ist. Danach beträgt letztere mehr als das Dreifache der normalen Ratten, obgleich die mit Thyroxin behandelten Tiere durchschnittlich eine etwas geringere Adrenalindosis als normale Ratten erhielten. Demgegenüber war der Mittelwert der Stoffwechselabnahme bei Thyroxintieren nur 5,8%, bei normalen aber 13,7%.

In 8 Versuchen wiederholten wir binnen 2—3 Stunden nach der ersten Adrenalineinspritzung die Adrenalindosis, indem wir von einer Lösung 1 : 20000 $5 \times 0{,}2$ ccm gaben. Die Tiere erhielten auf diese Weise durchschnittlich $5 \times 6{,}8$ γ/100 g Adrenalin, was im Mittelwert eine 40,1%ige Stoffwechselsteigerung bewirkte. Dieser ging lediglich in 2 Fällen eine

[28] Mertens u. H. Rein: Pflügers Arch. **241**, S. 402.

Stoffwechselabnahme vorauf; im übrigen nahm der Sauerstoffverbrauch bereits in den ersten 10 Minuten stets erheblich zu.

In Tabelle 3 sind die Versuche dargestellt, bei denen wir Adrenalin subcutan gaben: wir führten an 19 normalen Ratten 37 Versuche durch, indem wir den Tieren mehrere Injektionen beibrachten. Diese wiederholten wir in den ersten Versuchen nach je 2—3 Tagen, bei den späteren nach 2—3 Stunden, weil die Wirkung der zuerst gegebenen kleineren Adrenalindosis im Laufe dieser Zeit in der Regel aufhörte.

In einem großen Teil auch dieser Versuche nahm der Stoffwechsel in den ersten 10—20 Minuten nach der Adrenalineinspritzung bedeutend ab.

Tabelle 3.

Nr.	Tiergewicht g	Adrenalin γ/100 g	O_2-Verbrauch norm.	O_2-Verbrauch nach Adrenalin						Abnahme %	Zunahme %
				10′	30′	1 h	1 h 30′	2 h	3 h		
23	146	24,8	26,0	28,9	27,8	27,8				—	11,7
	140	35,7	28,3	29,2	28,3	28,6				—	3,2
	133	75,0	24,4	23,7	26,1	29,0				2,8	18,8
	129	155,0	24,2	20,6	25,6	30,1	29,0	28,2	27,4	14,8	24,4
	117	213,0	23,2	25,1	35,8	37,2	40,0	42,4	45,0	—	94,0
24	130	27,1	25,4	24,9	27,8	30,0	28.8	26,0		8,1	10,7
	122	41,0	25,9	18,8	27,2	26,7				27,4	5,0
	120	83,0	25,5	20,2	25,0	25,2				20,8	—
	118	175,0	24,6	23,5	27,1	29,4	32,1	27,6	27,2	4,9	30,5
	120	416,0	24,1	29,0	45,0	47,3	55,2	49,7	42,5	—	129,0
35	120	83,5	36,6	41,3	35,1	30,5				16,7	18,3
36	83	120.0	30.0	27,0	27,3	31,0	36,1	32,7	27,2	10,0	20,0
39	102	98,0	32,1	32,4	31,0	40,5	43,7	46,6	39,4	3,4	45,0
40	97	51,5	37,3	33,2	45,5	40,0		38,2	37,3	11,0	25,0
		103,0		37,2	32,9	35,5	42,0	48,0	57,0	12,0	52,5
41	72	69,5	20,4	18,4	19,3	18,4				10,0	—
42	118	28,2	30,4	30,6	28,3	29,0	31,5			7,5	3,6
		42,4		35,4	45,4	56,0	57,4	58,9	46,5	—	94,0
43	95	52,5	24,0	19,9	27,7	21,2			16,8	17,0	15,4
		105,0		20,4	29,5	34,1	32,4			—	42,0
44	127	39,4	31,4	24,3	42,4	32,4			33,2	22,6	35,1
		26,2		33,0	31,4	34,1	32,9			—	8,6
45	137	36,5	33,0	25,8	31,5	31,4	31,1		30,1	21,8	—
		73,0		35,5	31,5	36,7	44,2	50,5		4,5	42,3
46	105	47,6	25,0	17,4	30,7	32,6	26,1		24,1	30,4	30,4
		31,8		22,4	23,1	24,3	24,1			10,4	—
47	93	35,8	25,2	22,1	39,5	30,3	26,9			12,3	56,8
48	83	40,0	28,0	22,6	19,4			24,8		30,6	—
		60,0		27,8	42,6	37,4	43,2			—	53,0
49	94	35,1	26,5	20.2	31,8	35,9	28,4	25,8		20,0	35,5
50	89	37,4	25,5	24,6	23,5		27,3			80,0	—
		56,0		34,7	49,7	38,6	35,6	32,7	31,7	—	58,0
51	108	30,4	28,5	26,9	29,0	31,0				5,6	8,8
		46,2		39.3	57,9	58,2	56,2	51,1	38,6	—	104,0
52	105	31,8	27,9	22,2	24,8	24,1				20,4	—
		47,5		27,7	31,6	32,7	33,4	36,7	38,6	—	38,5
Mittelwert:		74,3		26,8	32,1	33,1	36,4	38,7	35,1	9,9	30,4

In 11 Fällen erfolgte keine Abnahme, vielmehr begann die Wirkung allsogleich mit einer Steigerung. In weiteren 4 Fällen war die Stoffwechselverminderung kleiner als 5%, sie lag danach innerhalb des Versuchsfehlers. In 21 Fällen beobachteten wir eine 10—30 Minuten dauernde ausgeprägte Verminderung, was im Mittelwert 9,9% ist. Die Adrenalinempfindlichkeit der Tiere zeigt auch hinsichtlich der Stoffwechselsteigerung ziemlich erhebliche Unterschiede. Eine solche Zunahme ist mit Sicherheit lediglich von den 40—50 γ/100 g betragenden Dosen zu erwarten. Darunterliegende Gaben bewirkten meistens keine wesentliche Erhöhung, wiewohl auch von 25—35 γ/100 g manchmal eine bedeutende Zunahme hervorgebracht wurde.

Von den zu diesem Versuche benutzten Ratten behandelten wir 9 Tiere mit Thyroxin (Tabelle 4). Da diese Versuche in den Wintermonaten vorgenommen wurden, war es nötig, während 4—8 Tagen täglich 40 γ/100 g Thyroxin zu geben, bis der Stoffwechsel der Tiere erheblich anstieg; indes bei 2 Tieren erfolgte dies auch unter diesen Umständen nicht. Wir machten also bei Ratten die gleiche Erfahrung wie früher [29] bei Katzen, d. h. daß Thyroxin in den Frühlingsmonaten bereits in wesentlich geringeren Dosen eine Stoffwechselsteigerung bewirkt als im Winter.

Die thyroxinierten Tiere reagieren auf Adrenalin in auffallend starker Weise. Besonderes Interesse beansprucht der Umstand, daß die Stoffwechselzunahme — mit Ausnahme von 3 Fällen — sogleich in den ersten 10 Minuten begann. In 2 Fällen war die Abnahme unbedeutend und erreichte nur in einem Falle 10%, verblieb dann aber längere Zeit auf diesem Spiegel. Während bei diesen 9 Tieren vor der Thyroxinbehandlung durchschnittlich 54,5 γ/100 g Adrenalin 22,5% Stoffwechselsteigerung verursachten, hob nach Thyroxinierung 46,8 γ/100 g Adrenalin den Sauerstoffverbrauch um 43,8%. Die Wirkung der kleineren Adrenalindosis erwies sich demnach als doppelt so stark, obgleich der O_2-Verbrauch der thyroxinierten Tiere ohnehin wesentlich höher als der normale war. Somit steigerten Thyroxin und Adrenalin gemeinsam den Stoffwechsel oft auf das Doppelte des normalen.

Wir exstirpierten weiteren 13 Ratten die Schilddrüse (Tabelle 5) und gaben nach 10—28 Tagen — als ihr Stoffwechsel bereits eine starke Herabminderung erfuhr — in Urethannarkose Adrenalin auf übliche Weise subcutan. Wir wiederholten ein- bis zweimal die Injektionen in Zeiträumen von 2—3 Stunden mit dem doppelten Quantum der vorhergehenden Dosis.

In thyreopriven Tieren ist die Adreanlinwirkung nicht allein schwächer, vielmehr verschiebt sie sich auch zugunsten der ersten stoffwechselvermindernden Phase. Von 33 Injektionen brachte Adrenalin lediglich in 3 Fällen keine Stoffwechselabnahme hervor; diese nahmen wir in allen anderen Fällen wahr, und sie betrug im Mittelwert 21,4%.

[29] v. Issekutz, B., M. Leinzinger u. B. v. Issekutz jun.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **185**, 673 (1937).

Tabelle 4.

Nr.	Tiergewicht in g vor	Tiergewicht in g nach	Thyroxin γ/100 g	O_2-Verbrauch vor	O_2-Verbrauch nach	Adrenalin γ/100 g	O_2-Verbrauch nach Adrenalin 10′	30′	60′	$1^h30'$	2^h	3^h	Abnahme %	Zunahme %
	Thyroxin			Thyroxin										
23	146	124	6 × 40	26,0	42,3	80,0	44,0	47,2	53,0	61,7	67,3	48,0	—	59,0
35	120	102	8 × 40	36,6	44,4	88,0	49,3	60,1	70,5	62,6	60,1	56,2		59,0
40	97	94	5 × 40	37,3	35,0	35,4	35,8	42,0	44,2	44,0	46,3	50,2	--	43,0
43	95	95	4 × 40	24,0	31,4	35,2	30,9	35,4	35,9	35,8	36,9	44,4	1,6	14,6
						52,5	34,5	42,3	45,9	41,5	40,6	36,5	—	46,2
46	105	110	5 × 40	25,0	38,6	30,0	38,6	41,6	44,3	44,4	43,3	41,0	—	15,0
47	93	93	8 × 40	25,2	49,2	27,0	46,5	51,8	54,7	59,0	60,6	63,9	4,6	29,9
48	83	75	4 × 40	28,0	25,6	39,5	23,0	23,3	23,6	23,5	23,8		10,9	
						66,5	26,9	45,2	40,8	39,2	33,6	28,6	—	76,5
50	89	80	8 × 40	25,5	30,2	41,3	31,5	43,8	42,0	46,1	52,8	56,6	—	88,2
51	108	105	5 × 40	28,5	36,2	31,4	36,9	41,0	41,6	50,2	55,6		—	53,5
						47,6	60,9	68,2	70,5	72,8	72,5		—	100,0
52	105	103	5 × 40	27,9	43,7	32,8	40,3	48,6	50,4	52,2	56,9		—	30,2
						48,5	55,4	56,8	46,8	46,8	46,4			—
				Mittelwert:		46,0	39,6	46,2	47,4	48,5	49,7		Mittelwert:	43,8
				Schilddrüsenlose Tiere, nach Thyroxin-Behandlung										
64	122	100	7 × 40	28,6	35,8	50,0	40,0	44,2	40,4	39,1			—	23,4
68	88	70	5 × 40	20,0	31,9	70,5	34,2	32,4	32,4	36,8	44,6	41,6	—	40,0
						143,0	29,2	51,5	53,7	53,2	50,8	42,5	8,5	68,5
69	102	92	7 × 40	29,6	32,1	54,4	34,4	31,7	30,7	32,0			4,6	6,7
						108,8	34,0	41,0	43,7	53,2	50,0	42,2	—	66,0
71	91	75	8 × 40	20,9	21,7	66,0	21,3	29,7	33,5	29,1	29,2		—	37,4
				Mittelwert:		82,2	32,3	38,4	39,1	40,5	Mittelwert:		6,5	40,3

Tabelle 5.

Nr. des Versuches	Tiergewicht g	Adrenalin γ/100 g	Norm. O_2 10′	O_2-Verbrauch nach Adrenalin 10′	30′	60′	1h30′	2h	3h	Abnahme %	Zunahme %	Tiere mit entfernter Schilddrüse: Zeit nach der Operation (in Tagen)	Zeitdifferenz zwischen der 1. und 2. Injektion
53	117	28,4	23,0	20,2	18,9	19,4		20,0		12,4	—	15	
		42,7		19,2	38,2	27,6	25,0	20,9		16,1	66,1		2h30′
54	115	43,5	23,5	20,1	17,4	17,1	15,1			35,8	—	15	
		87,0		16,4	17,9	18,8				30,1	—		2h30′
		174,0		17,9	20,4	21,8	20,6			23,8	—		4h
55	152	32,9	29,4	29,7	25,2	27,4		24,5		16,7	—	16	
		65,8		27,4	26,3	27,8		29,1		6,8	—		2h
		131,6		34,8	55,5	55,7	57,3	58,8		—	100,0		4h45′
56	126	39,7	24,5	25,2	20,0	19,7		21,3		20,2	–	16	
		79,4		20,7	21,6	23,1	22,4	24,5		15,5	—		2h
		158,8		23,2	29,9	38,8	39,3	34,8		5,3	60,7	7	4h45′
57	97	51,5	18,6	22,1	17,5	16,5		20,0		11,3	18,8	20	
		103,0		18,5	26,7	18,5	18,2	17,0		8,6	28,0		2h30′
58	107	46,7	17,5	15,1	17,8	17,6		17,9		13,7	—	20	
		93,4		17,9	20,0	24,6	24,6	22,8		—	40,1		2h30′
59	102	44,0	28,5	21,1	16,2	17,1		15,6		45,0	—	28	
		98,0		15,6	21,7	32,5	36,3	30,7		45,0	27,3		2h
60	107	46,7	28,0	12,2	12,8	13,8		13,8		56,5	—	21	
		93,4		12,9	15,7	15,0		13,1		54,0	—		2h
		186,8		12,6	17,5	19,3	18,2	15,9		55,0	—		4h
61	125	40,0	30,6	27,7	19,4	20,6	22,2	24,2		36,7	—	19	
		80,0		25,0	21,0	20,3	20,3	20,3		34,6	—		2h
		60,0		19,8	24,8	22,2	23,4	22,0		35,4	-		2h
64	122	41,0	28,6	26,3	24,0	24,8	26,8	28,8		14,2	—	15	
		82,0		20,7	24,7	24,6	22,1	23,4		27,6	—		2h
		164,0		24,6	47,5	51,3	47,3	37,5		14,0	80,0		2h
68	88	58,6	20,0	19,6	19,3	13,5	18,6	19,0		7,5	—	18	
		117,3		20,9	38,1	31,3	24,9	24,0		—	90,5		2h
69	102	49,0	29,6	19,3	16,2	15,8	15,2	15,4		50,0	—	11	
		98,0		16,1	16,5	16,3	18,6	22,5		45,6	—		1h
		196,0		23,7	27,5	24,0	22,5			16,5	—		2h
71	91	55,0	20,9	14,3	15,5			14,9		31,6	—	10	
		110,0		16,3	25,9	21,6	23,2	22,9		22,0	23,9		2h
Mittelwert:		87,8						Mittelwert:		21,4	16,7		

Dagegen war seine stoffwechselsteigernde Wirkung nur in 10 Fällen feststellbar. Von diesen mußten wir in 8 Fällen mehr als 80 γ, sogar mehr als 100 γ/100 g geben. In 4 Fällen steigerten selbst Gaben von 160 bis 196 γ/100 g nicht den Stoffwechsel. Im Mittelwert erhielten die Tiere in den 31 Injektionen durchschnittlich 87,8 γ/100 g, was eine Abnahme von 21,4 % und eine Zunahme von 16,7 % bewirkte.

Wir gaben 4 thyreopriven Ratten (Tabelle 4) während 5—8 Tagen Thyroxin und darauf abermals Adrenalin. Dabei erwies es sich, daß Thyroxin die Adrenalinwirkung auch bei diesen Tieren veränderte, indem der Stoffwechsel nunmehr in 4 Fällen unmittelbar nach der Einspritzung zuzunehmen begann, während nur in 2 Fällen dieser Zunahme eine Abnahme voraufging.

Das Endergebnis all dieser Versuche ist demnach, daß die Schilddrüse bzw. Thyroxin die Adrenalinwirkung nicht allein steigert, vielmehr auch modifiziert. Je stärker der tierische Organismus unter Thyroxinwirkung steht, um so mehr wird die erste Phase der Adrenalinwirkung, die Stoffwechselabnahme, abgeschwächt, und um so mehr tritt die zweite Phase, die Stoffwechselzunahme, in den Vordergrund. In thyreopriven Tieren dagegen ist letztere Wirkung schwer und nur mit großen Gaben auslösbar; in solchen Tieren verursacht Adrenalin oft lediglich eine Stoffwechselverminderung. Man hat den Eindruck, daß diese beiden gegensätzlichen Wirkungen des Adrenalins miteinander wetteifern. Wahrscheinlich spielt die gefäßverengernde Wirkung bei der anfänglichen Stoffwechselabnahme eine entscheidende Rolle. Diese Wirkung des Adrenalins kommt auch in thyreopriven Tieren zur Geltung. Dagegen ist seine stoffwechselsteigernde Wirkung in solchen Tieren weitaus zu schwach, um nach Beseitigung der gefäßverengernden Wirkung eine Steigerung des Sauerstoffverbrauchs herbeiführen zu können. Scheinbar sensibilisiert Thyroxin die Zellatmung für Adrenalin besser als die Blutgefäße; von den beiden gegensetzlichen Wirkungen vermag deshalb die stoffwechselsteigernde Wirkung gegenüber der gefäßverengernden und stoffwechselvermindernden Wirkung wesentlich stärker zur Geltung zu kommen.

Für diese unsere Auffassung spricht unsere letzte Versuchsserie, in welcher wir die Adrenalinwirkung mittels sympathischer Endapparate lähmender Mittel zu verhindern versuchten (Tabelle 6). Zu diesem Zwecke gaben wir nach Bestimmung des Stoffwechsels der Ratten Fourneau-Base 883 (Diäthylaminomethylo-2-benzodioxan) in Mengen von 0,01 bis 0,02 g/100 g, was den Stoffwechsel der Tiere meistens herabminderte. Danach gaben wir ihnen in üblicher Weise Adrenalin subcutan. In gleicher Weise verfuhren wir, als wir den Tieren zuerst Ergotamin oder mit diesem in der Wirkung identisches Sensibamin in Mengen von 0,5—1,0 mg beibrachten. Wir beobachteten an 26 Tieren die Wirkung von 28 Adrenalineinspritzungen. Von diesen lag die anfängliche Stoffwechselabnahme nur in 5 Fällen über 5 %; in weiteren 6 Fällen erreichte sie nicht die 5 %, in

Tabelle 6.

Nr.	Tiergewicht g	F. 883 g/100 g	Adrenalin γ/100 g	O_2-Verbrauch norm. in 10′	O_2-Verbrauch nach F. 883 in 10′	O_2-Verbrauch nach Adrenalin 10′	30′	60′	$1^h30'$	2^h	3^h	Abnahme %	Zunahme %
1	94	0,01	106,5		26,2	24,0	25,6	31,2	34,9			8,4	25,0
2	185	0,01	54,0	37,3	31,8	30.3	32,0	32,4			39,0	4,4	22,6
3	185	0,01	54,0		35,2	38,8	39,0	39,8			44,0	—	25,0
4	83	0,01	120,0		16,6	17,9	23,0	24,1	29,2	30,0		—	81,0
			240,0			32,8	38,2	39,2	38,4			—	136,0
5	141	0,01	71,0	28,0	28,0	26,2	30,7	35,8	40,5	37,0		6,4	44,7
6	134	0,01	74,7		27,0	25,0	25,1	25,2				7,4	—
			159,4			26,2	26,2	26,1				3,2	—
8	127	0,02	157,0	34,6	23,4	22,6	24,7	25,2				3,4	7,7
9	180	0,01	111,0	40,0	36,8	34,6	37,3	40,0	47,0			5,9	30,1
10	110	0,02	182,0	33,6	29,5	35,6	46,0	63,5	52,0			—	117,0
11	163	0,01	122,0	30,0	27,4	33,6	41,3	55,5	46,4			—	102,5
12	74	0,02	135,0	11,0	18,1	18,0	19,0	20,2	23,4	24,2		—	33,7
13	188	0,02	53,2	33,6	33,0	32,1	36,5	40,2	53,6			1,8	59,5
14	235	0,02	42,5	46,3	28,5	41,8	51,7	46,5				—	81,5
15	206	0,01	48,5	37,5	33,1	26,8	42,8	58,7	52,6			19,0	72,5
16	226	0,01	44,2	46,2	29,8	30,9	53,2	71,6	77,0			—	158,0
17	238	0,01	42,0	41,7	31,2	31,1	32,5	34,3	34,7			—	11,2
18	225	0,01	44,3	35,8	33,5	33,4	34,5	36,8	38,1	40,7		—	21,5
19	220	0,01	44,5	35,0	29,3	31,1	32,8	32,8	32,9			—	12,3
		Ergotamin mg											
20	223	0,5	45,0	37,5	30,9	36,4	44,8	45,7	43,1				21,8
21	231	0,5	43,3	39,1	36,1	34,8	43,1	47,0	43,0			3,6	22,1
22	211	1,0	47,5	46,5	37,5	36,8	48,4	58,1	55,2			1,8	55,0
23	260	1,0	38,6	44,0	32,8	34,2	41,0	47,8	52,1			—	59,0
24	250	1,0	40,0	44,7	38,4	52,5	70,3	45,6	41,4			—	83,5
25	270	1,0	37,0	49,8	44,7	42,5	45,0	48,4				4,9	7,5
26	194	0,5	51,5	42,8	31,7	43,4	47,8	55,0				—	73,5
27	175	0,5	57,0	47,3	42,0	41,0	43,4	50,5	43,4			2,4	44,0
		Mittelwert:	80,9								Mittelwert:	2,5	50,3

15 Fällen aber nahm der Stoffwechsel sofort zu. Die Lähmung der sympathischen Endapparate vermag also die stoffwechselsteigernde Wirkung des Adrenalins nicht zu verhindern. Wir gaben im Mittelwert 80,9 γ/100 g, was 50,2 % Steigerung bewirkte.

Demgegenüber ist es auffallend, daß eine stoffwechselvermindernde Wirkung von Adrenalin in den überwiegenden Versuchen überhaupt nicht zu beobachten war, und auch in den übrigen war sie geringer als der normale Wert, so daß der Mittelwert (2,5 %) tief unter letzterem bleibt. Auch dies scheint dafür zu sprechen, daß der gefäßverengernden Wirkung hierbei eine bedeutende Rolle zukommt. Verhindert man diese Wirkung durch Lähmung des Sympathicus, dann wird auch die Stoffwechselverminderung geringer oder vollkommen beseitigt.

Zusammenfassung.

1. Wird Adrenalin Ratten intraperitoneal oder subcutan gegeben, so vermindert es den Sauerstoffverbrauch während 10—20 Minuten und hebt ihn darauf für längere Zeit um 30—50 %.

2. An mit Thyroxin behandelten Ratten unterbleibt meistens die stoffwechselvermindernde Wirkung, wogegen die Stoffwechselsteigerung erheblich stärker ist.

3. Bei thyreopriven Ratten dagegen wirkt Adrenalin schwächer als normalerweise; es bewirkt häufig lediglich eine Stoffwechselabnahme und nur eine große Dosis hebt den Sauerstoffverbrauch. Die Behandlung solcher Tiere mit Thyroxin stellt die normale Adrenalinempfindlichkeit wieder her.

4. Nach Gabe von Sympathicolytica (F 883, Ergotamin) fehlt meistens die anfängliche herabmindernde Wirkung auf den Sauerstoffverbrauch; dies wahrscheinlich aus dem Grunde, daß Adrenalin in diesem Falle eine Gefäßverengerung nicht herbeiführt. Dagegen vermag Adrenalin den Stoffwechsel auch nach Lähmung der sympathischen Endapparate in gleicher Weise zu steigern wie bei normalen Tieren.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Peter-Pázmány-Universität Budapest.

Einfache Apparate zur Messung des Sauerstoff-Verbrauches von Versuchstieren.

Von

B. v. Issekutz und **B. v. Issekutz jr.**

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 6. Dezember 1941.)

Im folgenden wird ein verhältnismäßig einfacher Apparat beschrieben, welcher sich bei der Bestimmung und dauernden Registrierung des Gasstoffwechsels von Tieren mit spontaner oder künstlicher Atmung sehr gut bewährt hat.

Derselbe besteht (Abb. 1) aus einer Lamellenpumpe (*A*) mit Motorantrieb, deren Achse durch eine Zahnrad-Übertragung mit dem Dosierungs-

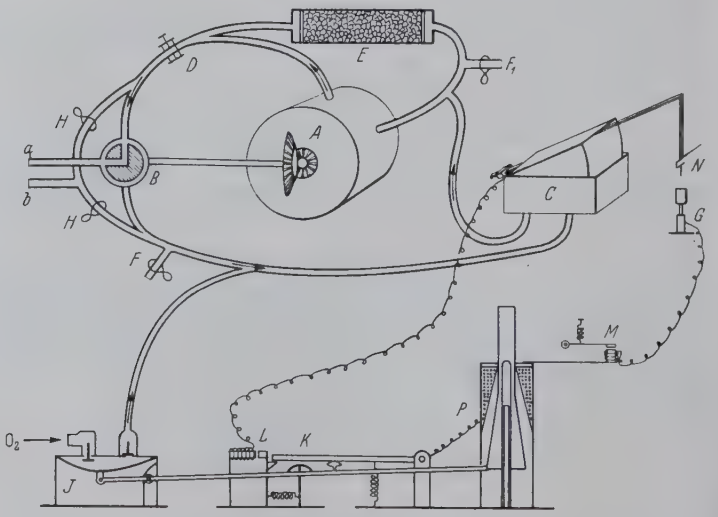


Abb. 1.

apparat *B* in Verbindung steht. Letzterer ist ein T-förmiger Hahn, dessen einmalige Umdrehung eine Einatmung und eine Ausatmung ermöglicht, und der durch Rohr *a* mit der Trachealkanüle verbunden ist. Die Übertragung zwischen Pumpe und Dosierungsapparat ist in der Weise eingestellt, daß bei schnellstem Antrieb pro Minute 32 Atmungen erfolgen.

Die durch die Pumpe getriebene Luft strömt durch zwei parallele Röhrensysteme. Die eine Röhre führt vom Dosierungsapparat in die Lunge.

und von dort bei der Ausatmung in einen Kroghschen Respirometer (*C*). dann — wenn es nötig, durch ein zwecks Bindung des CO_2 eingeschaltetes KOH-Gefäß — zurück zu der Pumpe. Das Atmungsvolumen wird durch einen Quetschhahn mit Feineinstellung (*D*) reguliert; je stärker zugedrückt wird, um so mehr Luft strömt durch das Nebenrohr, in welches ein locker gefülltes Natron-Kalk-Gefäß (*E*) eingeschaltet ist.

Der beim Katzenversuch verwendete Respirometer hat einen, auf feinen Keilen balancierenden, Rezipienten von 10 × 15 cm Oberfläche und registriert eine Volumenveränderung bis zu 400 ccm. Beim Hundeversuch verwendet man einen Respirometer von 1500 ccm Fassungsvermögen. Das gebildete CO_2 wird durch den im Respirometer befindlichen Natronkalk gebunden. Das verbrauchte O_2 wird durch den Schreibehebel des Respirometers an einem Kymographen registriert. Wenn der Sauerstoff des Systems in dem Maße verbraucht wurde, daß sich die am unteren Rande des Respirometers angebrachte Platinnadel in die Quecksilberschale *G* senkt, wird ein Stromkreis geschlossen, der Magnet *L* öffnet Relais *K*, und der O_2-Dosierungsapparat wird eingeschaltet. Letzterer besteht aus einem starken Magneten (*P*), welcher die Hebungsarmatur der 100—200 ccm O_2 fassenden Pumpe *J* einmal hebt. Jetzt wird durch Relais *K* der Stromkreis ausgeschaltet und auf diese Weise eine zweimalige Dosierung verhindert. Der in dem Stromkreis eingeschaltete Zählungsapparat *M* zählt die Einschaltungen, die man mit Hilfe des Schreibers *N* auch am Kymographen registrieren kann.

Bei einem akuten Versuch genügt meistens die Messung des O_2-Verbrauches. Wenn aber auch die CO_2-Produktion gemessen werden soll, leitet man die Ausatmungsluft statt durch Natronkalk in ein mit 50%iger KOH-Lösung gefülltes Gefäß, und bestimmt die gebundene Menge CO_2 entweder durch Titration oder mit Hilfe des gasometrischen Verfahrens.

Wenn man die Quetschhähne *F* und F_1 öffnet, kann die Anordnung als einfacher künstlicher Atmungsapparat benutzt werden. So ist es sehr leicht, im Verlaufe eines Versuches die O_2-Bestimmung ein- und auszuschalten. Die künstliche Atmung verläuft genau so wie im Starlingschen Apparat, also mit spontaner Ausatmung und nicht durch Aussaugen. Eben aus diesem Grunde ist unserer Meinung nach der beschriebene Apparat der Schuster-Daleschen Pumpe überlegen. Mit dieser haben wir früher gearbeitet, aber es führte bei langdauernder Anwendung zu einer beträchtlichen Blutdrucksenkung.

Auch zur Registrierung des Sauerstoffverbrauches und des Atmungsvolumens spontan atmender Tiere ist unser Apparat gut verwendbar. In diesem Falle kommen die Quetschhähne *H* an die zum Dosierungsapparat *B* angeschalteten Gummischläuche, die Trachealkanüle wird mit Schlauch *b* verbunden und die zirkulierende Luft strömt nunmehr unter Umgehung des Dosierungsapparates *B* direkt in den Respirometer.

Zur Bestimmung des Sauerstoffverbrauches kleinerer Tiere hat sich uns ein seit Jahren angewandtes manometrisches Verfahren sehr gut bewährt. Das Wesen desselben besteht darin, daß ein geeigneter Tierbehälter mit einem Warburg-Manometer verbunden und der Sauerstoffverbrauch aus der Druckverminderung ebenso berechnet wird, als wenn man mit Gewebsschnitten oder Organstücken arbeitet. Zuerst arbeiteten wir mit Fröschen und Mäusen. Wir brachten die Tiere in einen 500 ccm fassenden Glaszylinder, in welchen zwecks Bindung des gebildeten CO_2 ein mit 50%iger KOH-Lösung getränkter Glaswolle gefülltes elliptisches Glasgefäß gesetzt wurde. In den, den Tierbehälter schließenden, Glasstöpsel wurde Natronkalk gebracht und die Tiere mit Hilfe eines doppelten Drahtnetzes vor den Laugen geschützt. Nachdem wir uns überzeugt hatten, daß das gebildete CO_2 genügend rasch gebunden wird und die Bestimmung des O_2-Verbrauches mit unserer Anordnung leicht ausführbar ist, konstruierten wir auch größere Behälter für Ratten, Meerschweinchen, ja sogar für Kaninchen und Katzen (Abb. 2). Selbstverständlich wurden diese

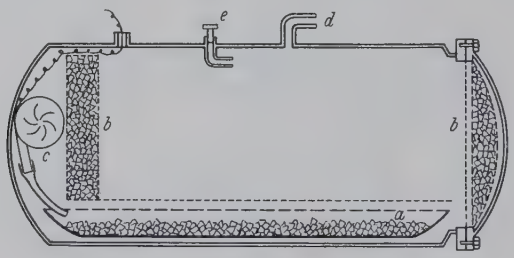


Abb. 2.

Apparate nicht aus Glas, sondern aus Metall gebaut, was außerdem noch den Vorteil mit sich brachte, daß bei diesen der Temperaturausgleich rascher zustande kommt. Diese Behälter haben einen elliptischen Querschnitt. Die für Ratten sind 20 cm lang, haben einen Durchmesser von 8 × 13 cm und fassen durchschnittlich 1600 ccm. Die Apparate für Meerschweinchen sind 30 cm lang, haben einen Durchmesser von 12 × 15 cm und ein Volumen von etwa 2000 ccm, während die für Kaninchen und Katzen 52 cm Länge, 20 cm Durchmesser und etwa 20 Liter Volumen haben. Am Boden des Tierbehälters befindet sich ein möglichst breiter und langer Nickeltrog (*a*), welcher dem Bedarf entsprechend mit 50, 100 bzw. 200 g angefeuchtetem Natronkalk gefüllt wurde. Auch an beiden Enden des Metallgefäßes befinden sich noch Natronkalkbehälter (*b*), vor welchen das Tier durch doppelte Drahtnetze vollkommen geschützt ist. Der am Boden befindliche Nickeltrog ist ebenfalls mit einem doppelten Drahtnetz bedeckt. Auf diese Weise sind die Versuchstiere von drei Seiten mit Natronkalk umgeben, was in den Apparaten für Ratten und Meerschweinchen

zur vollkommenen Bindung des CO_2 genügt. Da wir aber beim Katzenversuche beobachteten, daß in dem großen Behälter die Kohlensäure durch die drei Natronkalkbehälter nicht rasch genug gebunden wird, montierten wir an den hinteren Teil des Apparates noch einen kleinen elektrischen Ventilator [Föhnapparat (*c*)] an, welcher die Innenluft in ständiger Zirkulation hält und auf die untere Natronkalkschicht bläst.

Am oberen Teil des Apparates befinden sich zwei mit Metallhähnen versehene Öffnungen: die erste (*d*) dient zum Anschließen des mit Brodiescher Lösung gefüllten Manometers, welcher eine 400 mm lange Skala hat, während die mittels Schraube luftdicht verschlossene zweite (*e*) es ermöglicht, zeitweise Proben aus der Innenluft entnehmen zu können. Der CO_2-Gehalt der entnommenen Luftproben wird mit dem Haldaneschen Apparat bestimmt, und dann können die sich zwischen Anfang und Ende des Versuches etwa ergebenden Differenzen in Rechnung gestellt werden. Unsere zahlreichen Versuche zeigten jedoch, daß diese Differenzen so geringfügig sind, daß dieselben außer acht gelassen werden können und die ständigen CO_2-Bestimmungen vollkommen überflüssig sind, und sie sollen nur dann und wann rein der Kontrolle wegen vorgenommen werden. Das innere Ende des Hahnes *e* ist derartig geformt, daß man an dasselbe einen dünnen Gummischlauch befestigen kann, an dessen anderem Ende eine Injektionskanüle angebracht ist. Mit dieser Anordnung ist es möglich, beim Arbeiten mit narkotisierten Tieren, dem Tiere während des Versuches Injektionen zu geben.

Das Volumen des Tierbehälters kann man am leichtesten so bestimmen, daß man den fertig montierten Zylinder — selbstverständlich ohne Tier — mit Wasser füllt und dann aus der Gewichtszunahme oder durch Abmessen der verbrauchten Wassermenge das Volumen bestimmt. Eine andere Methode wäre, daß man mit Hilfe einer Gasbürette dem fertig montierten und mit Manometer versehenen Gefäß eine bestimmte Menge Luft entzieht und diese Druckverminderung in gewohnter Weise mit dem Manometer ermittelt. Bei der Berechnung der Gefäßkonstante wird das Volumen des Tieres von dem Gefäßvolumen in Abzug gebracht. Auf diese Weise erhält man das Gasvolumen V_g in ccm und aus diesem kann die Gefäßkonstante nach folgender Formel berechnet werden: $K = \frac{V_g \cdot \frac{273}{T}}{10000}$, wobei T die Versuchstemperatur in absoluten Wärmegrad bedeutet.

Selbstverständlich ist es äußerst wichtig, für eine pünktliche Temperaturregelung zu sorgen. Aus diesem Grunde sind die Apparate in einen elektrisch geheizten Wasserthermostaten von $120 \times 40 \times 40$ cm Größe versenkt. Die Temperaturschwankungen wurden mit einem Beckmannschen Thermometer gemessen und machten nicht mehr als $0{,}05^0$ aus. Dies verursacht eine Druckdifferenz von kaum 2 mm, kann also ruhig außer acht gelassen werden. Ein Thermobarometer ist gewöhnlich überflüssig.

Die Größe des Thermostaten ermöglicht, gleichzeitig mit drei Apparaten arbeiten zu können, wobei die Manometer gemeinsam mit einem Sauerstoffbehälter (Gummiballon) und einem Ausgleichventil verbunden sind.

Nachdem man die Versuchstiere eingeschlossen hat, versenkt man die Apparate im Wasserbad. Die Manometerhähne werden nun geöffnet und bei geringem Überdruck (mit Hilfe des Gummiballons) wird 20—30 Min. gewartet, bis die Temperatur sich ausgeglichen hat und die Tiere sich beruhigt haben. Nun werden die Druckdifferenzen durch Öffnen des Ventils ausgeglichen und die Brodie-Lösung im Manometer auf 400 mm eingestellt. Die Hähne werden geschlossen, eine Stoppuhr wird in Gang gesetzt und mit Hilfe der unteren Schraube des Manometers eine kleine Druckverminderung hervorgerufen. Wegen des großen O_2-Verbrauches der Tiere wird in Perioden von 10 Min. gearbeitet, da sich schon eine Drucksenkung von 150—300 mm ergeben kann. Am Ende der Periode wird das Manometer wieder auf 400 mm eingestellt und die Drucksenkung abgelesen. Danach werden die Hähne geöffnet, der verbrauchte Sauerstoff aus dem Gummiballon ergänzt, durch kurzes Öffnen des Ventils der Druck ausgeglichen, das Manometer wieder auf 400 mm eingestellt und nach dem Schließen der Hähne mit der Messung der neuen Periode begonnen. In den meisten Fällen genügen 6 Bestimmungen, wenn die Tiere jedoch unruhig sind, müssen mehr Bestimmungen ausgeführt werden. Bei den gefundenen Resultaten werden die sich aus der Unruhe der Tiere ergebenden zu hohen Werte weggelassen und der Mittelwert aus 4—5 niedrigeren Werten berechnet. Auf diese Weise kann binnen $1^1/_2$—2 Stunden der O_2-Verbrauch dreier Tiere auf einmal leicht bestimmt werden.

Unseren Erfahrungen gemäß sind die Vorteile dieser Methode die folgenden:

1. Einfache Einrichtung und Weglassung einer Pumpe, aus deren Undichtigkeit leicht Fehler entstehen können.

2. Die Möglichkeit, gleichzeitig mit 3 Apparaten arbeitend, die Versuchsreihen rasch und mühelos ausführen zu können. Es ist leicht möglich, an einem Tage den Sauerstoffverbrauch von 15 und mehr Tieren zu bestimmen.

3. Im Verlaufe eines Versuches erhält man infolge der kurzen Perioden 6—10 Werte, welche sich gegeneinander selbst kontrollieren, und bei welchen die sich durch die Unruhe der Tiere ergebenden zu großen Werte fortbleiben können.

4. Wenn mit narkotisierten Tieren gearbeitet wird, ist es möglich, den Tieren während des Versuches, ohne den Apparat auseinandernehmen zu müssen, Injektionen zu verabfolgen.

Ein unzweifelhafter Nachteil des Apparates besteht darin, daß die CO_2-Produktion nicht gemessen werden kann, daß er sich also zu Versuchen, bei denen die Bestimmung des respiratorischen Quotienten auch not-

wendig ist, nicht eignet. Ein weiterer, jedoch nicht so wichtiger Fehler des Apparates besteht darin, daß die Tiere sich in mit Wasserdampf gesättigter Luft befinden, sie gewöhnen sich jedoch an diese rasch, und bei guter Wahl der Temperatur des Wasserbades (28—29°) zeigt der gleichmäßige O_2-Verbrauch, daß die Tiere sich ruhig verhalten. Es ist ratsam, zwecks Kontrolle am Ende der Bestimmungen die Körpertemperatur der Tiere zu messen, und sollte sich während des Versuches eine Steigerung derselben zeigen, kann die Wassertemperatur um ein geringes gesenkt werden.

Zusammenfassung.

Es werden zwei Versuchsanordnungen beschrieben, von welchen die eine zur Messung des Gasstoffwechsels künstlich atmender Tiere, die andere zur manometrischen Bestimmung des Sauerstoffverbrauches verschieden großer Tiere (Maus — Katze) dient.

(Aus dem Hygiene-Institut der Universität Rostock.
(Direktor: Prof. Dr. Werner Kollath.)

Wachstum und Zellersatz in der Vitaminforschung.

17. Mitteilung:

Antikörperbildung bei Vitamin- und Wuchsstoffmangel.

Von

Werner Kollath.

Unter Mitarbeit von **Lotte Giesecke.**

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 21. Januar 1942.)

Die Ernährungsforschung hat nicht nur die Aufgabe, eine möglichst optimale Nahrungszusammensetzung für die Menschen zu sichern, sondern wirkt sich auch nach vielen andern Seiten bedeutungsvoll aus. Zu diesen gehört unter anderem die Ausnutzung der Erfahrung, daß Hunger, Unterernährung, vor allem aber auch „Vitaminmangel" eine Vorbedingung für manche Infektionen zu schaffen scheinen und daß infolgedessen z. B. ein wirklicher „Heileffekt" oder „Schutzeffekt" durch Vitamingaben bei menschlichen Infektionskrankheiten vielfach nicht nur erwartet, sondern auch als sicher angenommen wird. A. Frank gibt in dem ersten Übersichtsreferat eine Zusammenstellung, deren Inhalt sich nicht wesentlich von dem späteren Referat von Jusatz unterscheidet. Allerdings empfiehlt Frank angesichts der vorliegenden Unklarheit, möglichst „alle Vitamine" zu geben, insbesondere bei chronischen Infekten, während Jusatz dem Vitamin C eine ausschlaggebende Rolle für die humoralen Abwehrfunktionen des Organismus zuerkannt wissen will. Doch sagt er ausdrücklich, daß die „Ursachen für das Zusammentreffen von Infektionen und Mangelkrankheiten bis heute noch nicht völlig geklärt sind".

Man nimmt an, daß einerseits Vitaminmangel eine erhöhte Empfänglichkeit für Infektionserreger herbeiführt, daß aber andererseits eingedrungene Erreger einen erhöhten Bedarf an Vitaminen, namentlich von Vitamin C hervorrufen können.

Neben der Feststellung der Infektionsempfindlichkeit wurde auch die Bildung der Antikörper experimentell untersucht.

Es ergibt sich, daß die bei Vitaminversuchen benutzten Tiere verschiedenartig reagieren. Meerschweinchen und Kaninchen werden zwar am häufigsten benutzt (z. B. Pfannenstiel), doch zeigen sie erhebliche Unterschiede gegenüber der weißen Ratte, die das wichtigste Vitamin-Forschungstier ist. Bei der weißen Ratte sind aber die wenigsten Versuche vorgenommen worden.

Bieling hat wohl die umfassendsten Versuche bei Ratten angestellt. Er kommt zu dem Urteil, daß nicht Fortfall eines bestimmten Vitamins, sondern allgemeinere Ernährungsstörung bzw. Unterernährung verantwortlich gemacht werden muß. Er ernährte u. a. junge, wachsende Ratten mit einer Kost aus Reis, ausgekochtem Fleischmehl und amerikanischem Schweineschmalz *. Dabei trat eine Ernährungsstörung mit Gewichtsstillstand ein. Bei Infektionen mit Ratten-Paratyphusbazillen kam es dann zum Haften der Infektion unter dem Bild einer allgemeinen Sepsis, während die Normalratten nicht infiziert wurden. Hunger und Avitaminose verliefen im wesentlichen gleichartig.

Gegenüber Toxinwirkungen zeigten derartige Ratten zwar eine erhöhte Empfindlichkeit gegenüber Diphtherietoxin, nicht aber gegenüber Tetanus- und Botulinustoxin.

Die Antitoxinbildung bei Wachstumsstillstand war gering oder völlig aufgehoben.

Bieling erwähnt auch, daß die Immunisierung mit abgetöteten Pneumokokken zu einer nur geringen oder gar keinen Schutzwirkung führte. Bei Ratten verliefen diese Reaktionsunterschiede viel deutlicher als bei Kaninchen.

Die Antikörper vom Ambozeptortyp (Agglutinine und Hämolysine) zeigten deutliche Unterschiede bei normal ernährten und hungernden Kaninchen, nicht aber bei entsprechenden Ratten.

Bieling erwähnt, daß dies verschiedene Verhalten der Antikörper auch bei der Praxis der Immunisierung beobachtet wird: „reichliche und gute Ernährung hat für die Antitoxin produzierenden Pferde eine viel größere Bedeutung als für die antiinfektiöse Immunkörper bildenden Pferde".

Insgesamt kam er zu dem Urteil: Hunger und Vitaminmangel schädigen zweifach, sie machen weniger resistent und weniger immunisierbar.

Jusatz erwähnt, daß am wenigsten die Komplementbildungsfunktion abhängig von der Ernährung ist. Blut- und Serumbakterizidie seien beeinflußbar. Seine eigenen Versuche hat er nicht an Ratten angestellt.

Die Verschiedenheit der Versuchstiere geht auch aus den Versuchen von Coopers und Gross hervor: Vitamin C allein oder in Kombination mit Sulfanilamiden oder Antipneumokokkenserum ist bei der Ratte wertlos, wirkt aber beim Kaninchen.

Oelrichs fand, daß die Agglutininbildung gegen Typhusbazillen bei Vitamin D-Mangel-Ratten nicht gestört ist.

Patel faßte seine Erörterungen über die Wirkung von Vitamin A, B und C dahin zusammen, daß der gegenwärtige Stand des Wissens noch nicht bestimmte Schlüsse über die Rolle jedes Faktors erlaubte. Indirekt seien Wirkungen von B und C auf Gewebsreaktionen anzunehmen, welche auf die zirkulierenden Keime wirkten.

Eine besondere Erwähnung verdient das Vitamin A, das so oft als „antiinfektiöses" Vitamin bezeichnet wird. Aus den Arbeiten von Arons und van der Rijst, Mouriquand, Rollet und Chaix geht hervor, daß eine etwaige Schutzwirkung nur indirekt durch die Ausbildung des Epithels erfolgt. Man bezeichnet Vitamin A auch deshalb als „Epithelschutzvitamin". v. Euler stellte fest, daß A-Mangel zwar zu Pasteurella-Infektionen führte, daß A-Zugabe auch schützte, aber nicht durch gesteigerte Antikörperbildung. Der wahrscheinliche Mechanismus war die Regeneration der Schleimhäute **.

* Dieser Kost fehlen nach meinen Versuchen Wuchsstoffe.

** Nach meinen Beobachtungen kommt es bei A-Mangel zu einer schlechten Ausbildung von Kapillaren. Die Wirkung auf das Epithel ist sekundärer Natur.

Gundel, György und Pagel fanden eine Herabsetzung der Empfindlichkeit von Ratten beim Status seborrhoicus gegen pneumonische Prozesse. Hier besserte Vitamin H.

Freund konnte keine spezifische Schutzwirkung des Vitamins D bei Streptokokkenphlegmonen von Ratten feststellen.

Lassen fand, daß vierwöchentliche Rachitiskost keinen Unterschied gegenüber der Norm bei Paratyphusinfektionen herbeiführte.

Robertson und Ross stellten hingegen fest, daß Salmonella-Infektionen bei unbestrahlter Nahrung in 30%, bei bestrahlter Nahrung in 5% tödlich wirkten. Ross und Robertson ernährten eine Gruppe Ratten Vitamin B-frei, gaben der anderen 6% Trockenhefe. Bei B-freier Kost überstanden 19%, bei Hefezugabe 75% die Infektion mit Salmonella enteritidis.

Es ist überraschend, daß die sorgfältigen Versuche an Ratten von Bieling scheinbar keine Nachprüfung erfahren haben, und noch verwunderlicher ist es, daß nur eine so geringe Zahl von serologischen Studien bei vitaminarm ernährten Ratten überhaupt vorgenommen sind, zumal die Ratte doch das wichtigste Tier für die Vitaminforschung ist.

Statt dessen sind zahlreiche Studien über Immunität und Vitamine bei Kaninchen und Meerschweinchen durchgeführt. Diese reinen Pflanzenfresser verhalten sich aber in vielfacher Beziehung so völlig anders wie die Allesfresser: Ratten bzw. Menschen, daß man zum mindesten fordern muß, stets vergleichende Untersuchungen auch an Ratten durchzuführen. Am besten war es, alle Mangelkrankheiten bei Ratten hervorzurufen und dadurch eine universale Versuchsbedingung zu schaffen.

Hier versagte nun die bisherige Vitaminforschung, die ihrerseits die verschiedenen Mangelkrankheiten meist bei verschiedenen Tieren (Ratten, Meerschweinchen, Tauben usw.) hervorrief. Auf Grund meiner Versuche mit Suhrmann habe ich seinerzeit (1927) begonnen, durch Variation sämtlicher Nahrungsbestandteile alle Mangelkrankheiten bei Ratten hervorzurufen. Das gelang schließlich auch für den bis dahin unbekannten Rattenskorbut. Darüber hinaus wurden aber noch andere Mangelkrankheiten gefunden (s. 11. und 16. Mitteilung). Ich hoffe, dadurch mancherlei Streitfragen lösen zu können, die sich bei der Verwendung „normaler" Tiere nicht beantworten lassen.

Die neue Ordnung der akzessorischen Stoffe.

Die heute noch allgemein anerkannte Vitaminlehre besagt etwa folgendes: Ein Vitamin ist dazu da, eine Mangelkrankheit zu verhüten; es vermag deshalb auch wahrscheinlich, in größerer Menge gegeben, eine höhere Gesundheit herbeizuführen, ja, als Heilmittel auch bei anderen Krankheiten zu wirken.

Demgegenüber konnte ich in meinen Versuchen zeigen, daß „das Fehlen eines Vitamins immer nur eine unspezifische Voraussetzung für eine Mangelkrankheit darstellt. Anwesende und wirksam werdende Substanzen bestimmen, welche Krankheit entstehen kann."

Dies Wirksamwerden konnte in Beziehung zu bestimmten physiologischen Wirkungen gebracht werden. Dabei konnten bestimmte Gruppeneinteilungen vorgenommen werden, die hier noch einmal zusammengestellt werden sollen.

Tabelle 1. Schematische Ordnung von Mangelkrankheiten.

IV.	Alle Nahrungsstoffe	volle Gesundheit	
III.	Wuchsstoffe anwesend, fettlösliche Vitamine fehlen	paraplastisch-produktive Mangelkrankheiten	Rachitis, Störung der Fruchtbarkeit, Keratomalazie
II.	Wuchsstoffe fehlen, Vitamin B_1 anwesend, Kaliumphosphat	mesotrophische Mangelkrankheiten	„Alterskrankheiten" Pellagra
I. B.	Wuchsstoffe fehlen, Fehlen einzelner wasserlöslicher Vitamine bemerkbar	aplastisch-konsumptive Mangelkrankheiten	Sprue, Skorbut, Beriberi, Hungerödem
I. A.	Reine kalorische Kost, voller Nahrungsentzug	Hunger	

I. Die beiden untersten Abteilungen umfassen Mängel, die in verhältnismäßig kurzer Zeit zum Tode führen. Hier fehlt die Fähigkeit zur Zellneubildung infolge Wuchsstoffmangel (Aufbaustoffwechsel), während der Abbaustoffwechsel insgesamt oder teilweise weitergeht. Das führt zur Atrophien. Die Gruppe nannte ich „aplastisch-konsumptive Mangelkrankheiten". Sie enthält zwei Unterabteilungen:

a) Hunger und reine kalorische Ernährung bei vollem Vitaminmangel.

b) Die drei Mangelkrankheiten Beriberi (Kohlehydratstörung), Ödem (Störung des Wasserhaushalts) und Skorbut (Störung des Abbaus ungesättigter Fettsäuren; denn Vitamin C hat eine nahezu spezifische katalytisch-oxydierende Wirkung auf höher ungesättigte Fettsäuren: Linolensäure (Holtz). Von der gleichen Säure zeigte ich früher, daß sie bei Aplasie zu Blutungen führt. Zu dieser Gruppe gehört wahrscheinlich auch die Sprue, deren nähere Ursachen noch nicht erklärt werden konnten. Ich nehme an, daß es sich um eine Schädigung des Abbaus gesättigter Fettsäuren handelt.

II. Die zweite Untergruppe führt zu Mangelkrankheiten, die mit einer ziemlich langen Lebensdauer vereinbar sind. Ich bezeichnete sie als „mesotrophische" Mangelkrankheiten. Auf dieser Grundlage kommt es — durch eine Störung des Eiweißabbaus unter dem Einfluß von Magnesiumwirkungen (?) — zur „Pellagra". Ohne diese zusätzliche Schädigung aber entstehen bei gleichzeitiger Herabsetzung des Kalkstoffwechsels irreversible „Alterskrankheiten": Lungenblähung, Schrumpfniere, Arteriosklerose, Katarakt, Tumoren usw.

Die Grundlage ist das isolierte Wirksamwerden des Vitamins B_1 in Gegenwart von Kaliumionen, das auf den Abbau der Brenztraubensäure wirkt, die ihrerseits eine Schlüsselstellung im Abbau der Kohlehydrate, der Fette und des Eiweißes einnimmt. Dies B_1 ist für sich allein ein lebenserhaltendes Vitamin, und in begrenztem Umfange kommt es zu einem minimalen Wachstum. Die Kurven sind fast horizontal mit geringem Anstieg! Diese Schäden werden verhütet nicht durch die bekannten Vitamine, sondern durch reichliche Zugaben von hitzestabilen Wuchsstoffen. Bei dieser Mesotrophie sind alle bisher bekannten chemisch reinen Vitamine unwirksam.

III. Die dritte große Gruppe enthält jene Mangelkrankheiten, die mit fehlerhaften Neubildungen einhergehen. Hier sind Wuchsstoffe vorhanden oder werden durch die Vordiät wirksam. Es fehlt aber an wichtigen Baustoffen und nun bildet sich abnormes Gewebe. Hierher gehört die Keratomalazie (fehlerhafte Kapillarbildung), Fruchtbarkeitsstörung (Störung des Eisenstoffwechsels?) und Rachitis (Störung des Phosphor-Kalkstoffwechsels). Über deren komplizierte Analyse s. die vorhergehende 16. Mitteilung. Diese dritte Gruppe bezeichnete ich als paraplastisch-produktiv.

IV. Erst Anwesenheit aller notwendigen Substanzen führt zur Gesundheit.

Diese Ordnung ergibt nun eine viel übersichtlichere Einteilung der Mangelschäden als die bisherige Vitaminbezeichnung, die auf der zufälligen Auffindung der einzelnen Stoffe sowie deren chemischen Eigenschaften beruht. Ob diese Einteilung nun darüber hinaus noch einen praktischen ärztlichen Wert besitzt, müssen nun die weiteren Versuche zeigen. Hier soll die erste Versuchsgruppe zusammengefaßt werden, in der die seit 10 Jahren durchgeführten Immunisierungsversuche mitgeteilt werden.

Arbeitsplanung: Die Möglichkeit, die Vitaminforschung zu vertiefen und die dabei erhaltenen Resultate für die Immunitätsforschung nutzbar zu machen, war der tiefere Sinn meiner bisherigen Vitaminversuche. Die weitere Planung, auf der gleichen Basis das Infektions- und Chemotherapieproblem zu studieren, mußte zurückgestellt werden. Daß es höchst aussichtsreich ist, wird sich aus den unten gemachten Ausführungen ergeben.

In diesen Versuchen wird die entscheidende Prüfung vorgenommen, ob sich die von mir vorgeschlagene Einteilung der Mangelkrankheiten nicht nur in der Form sondern auch in der Funktionsstörung ausdrückt. Denn erst dann, wenn man zeigen kann, daß mit den gestörten Formen auch besondere Funktionsveränderungen verbunden sind, gewinnen die histologischen Befunde am Knochen, die ich zur Grundlage meiner Einteilung gemacht habe, eine überzeugende Kraft. Gesundheit läßt sich nicht

durch Aussehen prüfen, sondern durch die Feststellung der Belastungsfähigkeit durch Reize, Gifte, Infekte usw. Die Leistungsfähigkeit ist der Maßstab für die Gesundheit, nicht das Aussehen.

Die bisher meist übliche Zugabe einzelner Vitamine zu einer vollkommenen Kost, oder einer durch Autoklavieren teilweise vitaminbefreiten Kost erweist sich als unberechenbar, weil Wuchsstoffe unbeachtet dabei mitwirken und deshalb Reaktionen eintreten können, die auf diese zurückzuführen sind. Nicht Vitaminmangel ist dann das allein Schädliche, sondern die besondere Kombination der fehlenden und anwesenden Stoffe.

Man hat ferner infolge des bisherigen Fehlens einer solchen Systematik die Versuche hauptsächlich darauf abgestellt, ob die Zugabe der einzelnen Vitamine einen höheren Titer der einzelnen geprüften Immunkörper ergaben. Dabei wird übersehen, daß „alle Messungen in der Immunologie ungenau und mehr Schätzungen als Messungen sind" (Knorr, S. 731). Ferner aber wird nicht beachtet, daß zwar eine Wahrscheinlichkeit vorliegt, daß ein hoher Titer auch einen hohen Schutz gegen die betreffende Infektionskrankheit bedingt, daß aber das Verhalten der einzelnen Tierarten den einzelnen Erregern gegenüber höchst verschieden ist, und daß letzten Endes aus dem Verhalten eines Antikörpers kein Schluß auf das Verhalten eines andern gezogen werden darf. Besteht doch heute noch keine Einigung darüber, ob die Antikörper einheitlicher oder verschiedener Natur sind.

Knorr schreibt: „Die Auffassung von der Einheit der Antikörper entspricht am besten den Ergebnissen der experimentellen Immunologie". Doch weist er darauf hin, daß zwei Punkte dagegen sprechen: die mangelnden Parallelismen bei der Titration der verschiedenen Antikörper, sowie das Vorkommen der verschiedenen Antikörper in verschiedenen Eiweißfraktionen des Serums. Otto und Shirokawa nehmen z. B. für den anaphylaktischen Reaktionskörper eine Sonderstellung an.

Pfeiffer und Kolle nahmen bei Cholera-Immunisierung zwei Arten verschiedener spezifischer Antikörper an, die Bakteriolysine und die Agglutinine. Sie zeigten die Diskordanz des Verhaltens in faulendem Serum: Fehlen von Agglutininen bei vorhandenen Lysinen gegen Cholera- und Typhuserreger. Ruppel, Ornstein und Lasch konnten beide Antikörper trennen durch fraktionierte Fällung und Osmodialyse: der hämolytische Antikörper ging in die Pseudoglobulinfraktion, Agglutinine und Präzipitine in die Euglobulinfraktion. Singer trennte sie durch Adsorption an das Antigen.

Agglutinine und Präzipitine sind hingegen wahrscheinlich identisch und nur verschieden durch die Versuchstechnik.

Emmerich und Löw sowie Gruber sprachen die Ansicht aus, daß die sog. Agglutination nur das erste Stadium der Bakteriolyse sei, eine heute weit verbreitete Anschauung.

Wassermann meinte, daß „quantitative Unterschiede in der Agglutination und der Lyse nicht als Beweis gegen die Identität von Agglutination und Bakteriolysin herangezogen werden können. Denn es sei gut möglich, daß Komplementmangel Ursache des Versagens des einen Antikörpers sein könne. Der gleiche Antikörper könne sowohl agglutinierend wie lysierend wirken." An anderer Stelle aber nahm er noch das Vorhandensein von zwei getrennten, verschiedenen Stoffen an.

Versuchstechnik.

Fütterungstechnik.

Es wird dazu auf die Ausführungen in den früheren Mitteilungen, namentlich in der 11. Mitteilung, verwiesen. Die Versuche gelingen nur, wenn die Methoden und die Haltung der Tiere in Draht-Hängekäfigen genau beobachtet werden.

Eine besondere Beachtung muß der Benutzung großer Tierzahlen geschenkt werden. Man kann damit rechnen, daß von drei anfangs eingesetzten Ratten nur eine bis zur Blutentnahme durchhält. Also ist die dreifache Menge von Tieren einzusetzen, wie sie für die Beantwortung einer Frage für notwendig angesehen wird.

Immunisierungstechnik.

In Vorversuchen wurden die Möglichkeiten der intravenösen, intramuskulären und intraperitonealen Injektion erprobt. Es ergab sich, daß die intraperitoneale Injektion die größte Sicherheit bot. Bei Verwendung einer stumpfen Nadel ist die verlustfreie Verabfolgung der zur Immunisierung benutzten Bakterienmenge dadurch am meisten gewährleistet.

Die einzelnen Gruppen der einseitig ernährten Ratten verhalten sich nunmehr in ihrer Lebensdauer so verschieden, daß die Art der Versuchstechnik bei der Immunisierung dadurch bestimmt wurde. Denn wenn z. B. die aplastischen Krankheiten in spätestens 6 Wochen zum Tode führen, die Rachitis sich in etwa 14 Tagen entwickelt, zeigen die mesotrophischen Krankheiten eine Lebensdauer bis zu $2^1/_4$ Jahren. Um nun genaue Vergleiche zu ermöglichen, muß man die Immunisierung folgendermaßen vornehmen.

Grundlage der Berechnung ist das Verhalten der aplastischen Ratten. Man kann feststellen, daß diese etwa 14 Tage nach Beginn der Versuchsdiät die von der Vordiät gestapelten Wuchsstoffe erschöpft haben. Die Immunisierung darf also erst dann beginnen. Die Immunisierungsdauer kann höchstens 14 Tage betragen, da sonst zu viel Ratten vorher sterben (s. unten die Verlustziffern bei den Versuchen). Für die Blutentnahme ist das wesentlich. Sie erfolgte demnach nach der Immunisierung in 8—14 Tagen, nur gelegentlich in größeren Abständen.

Bei den mesotrophischen Ratten hat man weit längere Zeit, doch sind diese Tiere sehr anfällig, so daß die Verluste ebenfalls sehr groß sind.

Bei Rachitis ist eine Immunisierung mit gleicher Technik kaum möglich. Denn die übliche Versuchstechnik beruht darauf, daß man die Entstehung der Rachitis in den ersten 14 Tagen der Versuchsdiät hervorruft. Dabei wirken die mit der Vordiät aufgenommenen Wuchsstoffe mit und verschleiern das Bild. Eine chronische Rachitis können wir aber mit den bisher gefundenen Rachitisdiäten nicht hervorrufen. Die Ratten sterben vorher, da bei längerer Dauer der anderweitige Mangel der Diäten offenbar wird.

Man hat also bei Ratten die Möglichkeit, normale, aplastische und mesotrophische Ratten zu immunisieren und zu untersuchen. Aus dem Vergleich dieser Ergebnisse kann man dann versuchen, Rückschlüsse auf das Verhalten bei Rachitis zu ziehen, sowie auf den Immunisierungsvorgang bei Mangelkrankheiten überhaupt.

In allen Versuchen benutzten wir 24-Stunden-Kulturen von El-Tor-Vibrionen. Die Züchtung erfolgte auf stark alkalischem Choleraagar. Zur Abmessung der Bakterienmenge benutzten wir Pfeiffers „Normalöse" (2 mg),

deren Inhalt in $^1/_2$ ccm 0,85%iger NaCl-Lösung verrieben wurde. Die Aufschwemmung wurde 1 Stunde bei 56° C unter häufigem Umschütteln im Wasserbad abgetötet, dann auf Sterilität geprüft. Zweckmäßig verreibt man 2 Normalösen (Nö) in 1 ccm und injiziert dann $^1/_2$ ccm, da 1 ccm von den jungen Ratten oft schlecht vertragen wird.

Blutentnahme: Zwecks Blutentnahme wurden die Ratten leicht mit Äther narkotisiert, nachdem festgestellt war, daß dadurch keine Veränderungen für die beabsichtigten Versuche stattfanden. Dazu kamen sie in ein Gefäß, dessen Boden mit äthergetränktem Zellstoff belegt war. Die Narkose darf nicht zu stark sein, doch muß sie während der Herzpunktion anhalten, da sonst bei Bewegen der Ratten fast immer der Tod durch Verblutung erfolgt. Die leicht narkotisierten Ratten werden auf einem Operationsbrett mit Hilfe von Bändern leicht angespannt, die Blutentnahme erfolgt durch Herzpunktion. Die Kanülen dürfen nicht zu lang angeschliffen sein. Meist wurde 1 ccm entnommen, wenn die Tiere weiterleben sollten. Anderenfalls entnimmt man soviel wie möglich. Das Blut kommt in lange schmale Glasröhrchen, die sich in Zentrifugengläser einsetzen lassen.

Das Blut muß in diesen Röhrchen möglichst 4 Stunden, mindestens 3 Stunden bleiben. Dann wird der Blutkuchen abgestochen, alsdann wird zentrifugiert und das Serum abgehoben. Von 2 ccm Blut bekommt man etwa 1,2 ccm Serum.

Bestimmung des Komplementgehalts: Der Versuch wurde möglichst sofort mit dem frisch abgeheberten Serum angesetzt. Zur Bestimmung wurde das Blut in Verdünnungen von 1 : 1, 1 : 2 usw. einem hämolytischen System zugesetzt. Spätere Bestimmungen führen zu einer Erniedrigung des Titers.

Grundmenge 0,2 ccm. Die Bestimmung erfolgte an den Tagen, an denen der Wassermann im Institut angesetzt wurde. Statt des Patientenserums und des Antigens wurde dem austitrierten hämolytischen System (Ambozeptor 1 : 600 oder 1 : 700 + Hammelblutkörperchen) die entsprechende Kochsalzmenge zugesetzt. Dieses enthielt nun das verdünnte Rattenserum. Nach Aufenthalt von 40 Minuten im Wasserbad erfolgte die erste Ablesung, die zweite nach 1 Stunde. Das Resultat war nach 40 Minuten bereits konstant.

In manchen Doppelreihen wurde statt Kochsalzlösung Tyrodelösung benutzt.

Bestimmung des Agglutinationstiters. Nach 24 Stunden Aufenthalt im Kühlschrank wurde zunächst festgestellt, ob vollständige Gerinnung stattgefunden hatte. Eventuell erfolgte erneutes Zentrifugieren.

0,25 ccm wurden verdünnt von 1 : 4—1 : 4096. Bei geringen Serummengen genügen 0,1 ccm.

Zur Aufschwemmung wurden El-Tor-Vibrionen benutzt. Es wurde eine ziemlich trübe, gleichmäßige Aufschwemmung hergestellt in Kochsalzlösung. Auffüllung der Serum-Verdünnungsreihe, 2 Stunden Brutraum. Ablesung sofort nach Entnahme, nach weiteren 6, 24 und 48 Stunden.

In manchen Versuchsreihen benutzten wir statt der Kochsalzlösung Ringerlösung und Tyrodelösung. In manchen Versuchen wurden auch die einzelnen Bestandteile der Tyrodelösung benutzt (0,02% KCl, 0,02% $CaCl_2$, 0,01% $MgCl_2$, 0,005% H_2PO_4, 0,1% $NaHCO_3$ und 0,1% Glucose).

Pfeiffferscher Versuch (Vibriolyse) In der Mehrzahl der Fälle wurde hier nur die qualitative Prüfung vorgenommen. Das Serum (0,04 ccm) wurde 1 : 5 verdünnt auf 0,2 ccm. Diese Menge wurde den Meerschweinchen intraperitoneal gleichzeitig mit den lebenden El-Tor-Vibrionen (1 Normalöse in $^1/_2$ ccm NaCl-Lösung) gegeben. Die Probeentnahme erfolgte nach 20, 40 und 60 Minuten. Neben hängenden Tropfen wurden Dauerpräparate angelegt.

Blutbakterizidie-Versuch nach Wright: Diese Versuche wurden noch während meines Aufenthalts in Breslau von Frl. Irmgard Meissner ausgeführt [Technik siehe Zbl. f. Bakt. I. Orig., **116**, 294 (1930)].

Gerinnungsprüfung: Die Prüfung erfolgte nach der Methode von Schönheyder. Das durch Punktion erhaltene Blut wurde in paraffinierten Röhrchen aufgefangen, die entweder mit 0,2 ccm 3%iger Natriumcitratlösung vorbeschickt sind und mit dem Blut auf 2 ccm aufgefüllt werden. Besser ist es, Natriumcitrat 0,2 ccm in Spritze aufziehen und Blut bis 2 ccm aufziehen. 1–2 Minuten zentrifugieren bei 3–400 Umdrehungen i. d. Min., dann $^1/_2$ ccm abpipettieren und folgendermaßen in drei kleine Röhrchen der oben erwähnten Apparatur auffüllen:

0,1 ccm	Plasma	plus	7	Tropfen	NaCl	0,9%	plus	3	Tropfen	$CaCl_2$	1%
0,1 „	„	„	8	„	„	0,9%	„	2	„	„	1%
0,1 „	„	„	9	„	„	0,9%	„	1	„	„	1%

Apparat schließen, alle 14 Sekunden im Thermostaten herumdrehen (nicht dauernd drehen!). Die sich ergebenden Zeiten ablesen und notieren.

Es ist als Grundsatz für alle diese Arbeiten zu betonen, daß gleichmäßige und sichere Werte in höchstem Grade von einer sich immer gleichbleibenden Technik abhängig sind: gleiche Temperaturen, gleiche Röhrchen (ob paraffiniert oder nicht, ist sehr wichtig!), gleiche Pipetten, gleiche Technik der Blutentnahme spielen hierbei eine entscheidende Rolle.

Übersicht über die angestellten Versuche.

Vorversuche. Die Ausarbeitung der Methodik erfolgte an 85 Ratten, die normal oder mit den verschiedensten Diäten ernährt worden waren. Es ergab sich dabei, daß die einmalige bzw. zweimalige intraperitoneale Immunisierung normaler, gesunder Ratten durchaus geeignet ist, um eine nachweisbare Antikörperbildung hervorzurufen und verwertbar zu sein für die beabsichtigte Prüfung. Aus diesen Versuchen seien folgende erwähnt:

Versuch 73. Immunisierung von Normalratten.

Da grundsätzlich die Brauchbarkeit von jungen, wachsenden Ratten für Immunisierungsversuche feststeht, kann von einer eingehenden Veröffentlichung aller Protokolle abgesehen werden. Agglutination, Lyse und Blutbakterizidie konnten als nahezu regelmäßiges Ergebnis der Immunisierung mit 1—2 Normalösen festgestellt werden. Einige Ausnahmen erklärten sich mit einer veränderten Immunisierungstechnik. Die intraperitoneale Injektion versagte niemals. Als Auswahl wird Tabelle 2 wiedergegeben.

Die Zuchtdiät setzte sich zusammen aus Milch, Semmeln, gequetschtem Getreide, gekeimter Gerste. Das Gewicht der Tiere schwankte zwischen 50 und 100 g. Die Entnahme erfolgte nach 14 Tagen.

Der Agglutinationstiter beträgt meist 1 : 64 (128), in einzelnen Fällen weniger (1 : 8). Der Pfeiffersche Versuch war meist positiv, nur bei Ratte Nr. 1131 negativ. Die Prüfung der Blutbakterizidie ergab bei Verwendung einer hochgradigen Verdünnung ($^1/_{100000}$ Normalöse = 5—45 Keime) einen positiven Befund bis zu einer Blutverdünnung bis 1 : 8 und 1 : 16. Die Feststellung dieser Blutbakterizidie mußte später, als ich nach Rostock kam, unterbleiben. Nur in wenigen Fällen wurde die Prüfung bis 1935 durchgeführt und wird unten erwähnt werden. Der Komplement-

Tabelle 2.

Nr.	Immunisierung bei Gewicht	Punktion nach Tagen	Agglutination	Pfeiffferscher Versuch 0,2/1:5 verdünnt Meerschweinchen	Gerinnung
	Normale, vollwertige gemischte Kost. Versuch Nr. 73a.				
1105	zwischen 50 und 85 g	14	1:64	θ	normal
1106		14	fehlt	lebt	„
1107		14	1:64 (128)	„	„
1108		14	1:32 (512)	θ	„
1169	Dasselbe	14	1:64	θ	„
1170	„	14	1:64 (128)	lebt	„
1115	70 g	24	1:64	θ	„
1116	75 g	24	1:64 (128)	lebt	„
	Synthetische vollwertige Kostformen. Versuch Nr. 73b.				
1129	100 g	14	1:64 (128)	lebt	normal
1131	98 g	14	1:16 (32)	tot	„
1132	95 g	14	1:8	lebt	„

θ = nicht angestellt.

gehalt wirkte in Verdünnungen bis 1 : 2 und 1 : 4. Gerinnungsversuche wurden damals noch nicht angestellt. Sie werden unten gesondert behandelt.

Versuch 74. Immunisierung bei aplastisch-konsumptiven Diäten. Als Diät wurde hier meist die Diät X gegeben: gereinigtes Casein 20, Reisstärke 60, Erdnußöl 10, Salzgemisch Mc Collum 185 5 Teile. Dazu täglich 1 g Talg, 3 Tropfen Lebertran.

In Abb. 1 sind bei einigen Ratten die Gewichtskurven wiedergegeben, mit der Bezeichnung der Immunisierungsdaten, der Entnahme und dem Ergebnis. Ratte Nr. 1111 und Nr. 1112 erhielten je 1, Ratte Nr. 1110 und Nr. 1109 je 2 Normalösen (!).

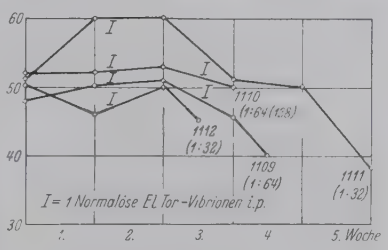


Abb. 1.

Der Agglutinationstiter steigt bei der doppelten Menge trotz der Gewichtsabnahme auf das Doppelte: 1 : 64 gegenüber 1 : 32. Aus der zusammenfassenden Übersichtstabelle III ergibt sich, daß der Titer stark schwanken kann; das hängt wahrscheinlich mit dem sehr verschiedenartigen Tiermaterial und den über Jahre hindurch zu verschiedenen Zeiten angesetzten Versuchen zusammen. Bis auf eine Ratte, die keine Agglutinine zeigt, weisen aber alle einen Titer zwischen 1 : 4 1 : 128 auf. Zum Teil erweist sich die Agglutination als „fädig"-abnorm, worauf unten zurückzukommen ist.

Tabelle 3. Aplastische Kostformen. Versuch Nr. 74. Diät X.

Nr.	Immunisierung nach Wochen der Genität	Punktion nach Tagen	Agglutination	Pfeifferscher Versuch Meerschweinchen	Gerinnung
1113	80 g	24	1:64 (256)	lebt	normal
1114	70 g	24	1:16 (32)	θ	„
1133		14	1:16	tot	„
1135		14	1:64	lebt	„
1109	50 g	18	1:64	θ	„
1110	50 g	10	1:64 (128)	θ	„
1111	60 g	24	1:32	θ	„
1112	50 g	14	1:32	θ	„
1959	2 Wochen	10	1:32 (fädig)	tot	„
1960	1 Normal-	10	1:32 „	lebt	unvollkommen
1962	öse	10	1:4	tot	„
1986	2 Normal-	14	1:8 (fädig)	lebt	normal
1987	ösen	14	1:16	tot	„
1988		14	negativ	tot	unvollkommen
1989		14	1:16 (fädig)	„	normal
1996		10	1:16 „	lebt	„
1998		10	1:4	krank, lebt	„
2001		10	1:16 (fädig)	lebt	„
2021	$2^1/_2$	10	1:32 „	tot	„
2022	Wochen	10	1:128 „	„	unvollkommen
2023		10	1:9	„	normal
2025		10	1:16	lebt	„
2028		10	1:32 (fädig)	tot	„
2035		10	1:8 (fädig bis 256)	„	„
2036		10	1:4 (fädig bis 128)	„	„
1978	2×2	10	1:8 (fädig)	lebt	„
1979	Normal-	10	1:16 „	„	unvollkommen
1980	ösen	10	1:16 „	„	normal
1992		10	1:16 „	„	„

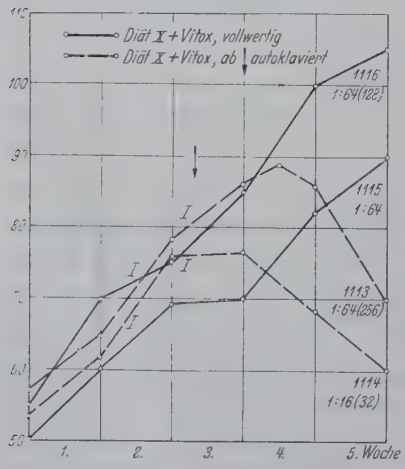


Abb. 2. I = Datum der Immunisierung mit 1 Normalöse El-Tor-Vibrionen.

In einem auffallenden Gegensatz dazu, daß mit einer Ausnahme sämtliche aplastischen Ratten Agglutinine bilden, steht nun das vielfache Fehlen von Lysinen im Pfeifferschen Versuch: Von 24 Ratten war der Versuch zwölfmal negativ, die Meerschweinchen starben also in der Hälfte der Fälle.

Der Komplementgehalt zeigte sich wirksam in Verdünnungen von 1:2 und 1:4, also wie in der Norm.

Es ist interessant, den Vergleich zwischen normalen und aplastischen Ratten auch optisch zu demonstrieren:

Hier sind wie in Abb. 1 die Gewichtskurven dargestellt. Hier erkennt man, daß praktisch kaum ein Unterschied in bezug auf die Bildung der Agglutinine besteht. Denn die Breite zwischen 1 : 16 bis 1 : 64 kann nicht als wesentlicher Unterschied betrachtet werden.

Diese Versuche werden außerordentlich erschwert durch zahlreiche Ausfälle. Den 21 Tieren, die den Versuch durchgestanden haben und bei denen nach 10 bzw. 14 Tagen die Blutentnahme gelang, stehen 31 Tiere gegenüber, die vor Ablauf der Immunisierungsfrist starben oder die bei der Narkose oder bei der Herzpunktion zugrunde gingen. Für die Praxis muß man also stets mit der mindestens doppelten, besser dreifachen Tierzahl arbeiten, um eine ausreichende Zahl von Versuchstieren zu bekommen.

Diese Versuche und Beobachtungen gewinnen nun aber erst ihre volle Bedeutung, wenn man sie mit dem Ausfall der Immunisierung bei mesotrophischen Ratten vergleicht.

Versuch 75. Immunisierung bei mesotrophischen Ratten.

Die Ratten bis zu der Nummer 1300 wurden noch in Breslau untersucht. Erst die darüber hinausgehenden Zahlen wurden bei der Neuaufnahme der Versuche in Rostock geprüft. Die Versuche in Breslau mußten damals auch bei der mesotrophischen Kost kurzfristig durchgeführt werden, weil mir ausreichende Mengen von Vitamin B_1 nicht zur Verfügung standen. Infolgedessen konnte ich erst nach mehreren Jahren die Versuche so durchführen, daß die Ratten lange genug gefüttert wurden. Erst dank der Unterstützung durch die I. G. Farbenindustrie mit den ausreichenden Vitaminmengen wurde es dann möglich, die Versuche so auszudehnen, daß sie zu einem eindeutigen und klaren Erfolg führten. Von 82 immunisierten Tieren starben 21 vor der Blutentnahme. Diese gehörten zu einer Gruppe von weiteren 30 Tieren, die infolge unzureichender Vorernährung keine einwandfreie mesotrophische horizontale Gewichtskurve entwickelten, sondern unter ziemlich starkem Gewichtsabfall im Verlaufe von 8—10 Wochen starben (s. Versuch 77). Alle Tiere mit einer einwandfreien horizontalen Gewichtskurve sind in der Tabelle 4 zusammengestellt.

Versuch 75 enthält einwandfrei, d. h. optimal, vorgefütterte mesotrophische Tiere, die immunisiert wurden von $7^1/_2$ bis $51^1/_2$ bzw. 95 Wochen nach Fütterungsbeginn. Die Entnahme erfolgte dann, wie aus der Tabelle 4 hervorgeht, in verschiedenen Abständen, zwischen 10 und 24 Tagen.

Die Agglutination zeigt jetzt ein vollkommen andersartiges Bild. Während bei den verhältnismäßig frühzeitig immunisierten Tieren (etwa nach $7^1/_2$ Wochen) noch die Agglutinine bei allen Tieren gebildet werden, findet man dann zunehmend mit der später einsetzenden Immunisierung das Versagen der Agglutininbildung, und bei den Tieren, die nach frühestens 30 Wochen immunisiert sind, sind schließlich alle negativ bis auf eins. 29 Fälle von positivem Agglutininnachweis stehen 26 negative gegenüber.

Die Lysinbildung aber verhält sich hier nun genau umgekehrt, denn im Pfeifferschen Versuch versagt nur das Serum von 2 Tieren (Nr. 2140 und 2112), 2 Meerschweinchen (Nr. 2114 und 2121) sind krank,

Tabelle 4. Gutes Tiermaterial, Vorfütterung usw.

Nr.	Immunisierung nach Wochen	Punktion nach Tagen	Agglutination	Pfeifferscher Versuch	Gerinnung
2108	$7^1/_2$	I. 10	negativ	lebt	normal
		II. 18		—	
		III. 24	1 : 32 (nach 24 Std.)	lebt	
2115	$7^1/_2$	I. 10		fehlt	
		II. 18	1 : 8 (128)	lebt	unvollkommen
2124	$7^1/_2$	24	1 : 16 (fädig)	„	„
2131	$7^1/_2$	10	1 : (16)	„	normal
2134	$7^1/_2$	20	1 : (8)	„	„
2138	$7^1/_2$	I. 10	1 : 8	„	unvollkommen
		II. 21	1 : 8 (32)	„	„
2140	$7^1/_2$	10	negativ	tot	„
2198	$7^1/_2$	10	„	lebt	θ
2199	$7^1/_2$	10	„	fehlt	θ
2112	8	10	„	tot	normal
2113	8	10	„	lebt	„
2114	8	I. 10	1 : 8 (fädig)	Tier krank, doch	„
		II. 21	1 : 8 (32) (fädig)	überlebend	„
2118	$8^1/_2$	10	negativ	lebt	„
2121	$8^1/_2$	21	„	krank, überlebt	„
2122	$8^1/_2$	21	1 : 4	lebt	„
2129	$8^1/_2$	I. 10	negativ	„	unvollkommen
		II. 21	„	„	„
2130	$8^1/_2$	21	1 : (32) nach 24 Std.	„	normal
2135	$8^1/_2$	10	negativ	„	„
2136	$8^1/_2$	I. 14	1 : 16 (fädig)	„	unvollkommen
		II. 21	1 : 16 „	„	„
2137	$8^1/_2$	14	1 : 4	„	normal
2107	9	21	negativ	lebt	unvollkommen
2109	9	21	1 : 4 (8)	„	normal
2110	9	14	1 : 4 (8)	„	unvollkommen
2123	$9^1/_2$	14	negativ	„	normal
2126	$9^1/_2$	I. 14	1 : 4 (16) (fädig)	„	unvollkommen
		II. 21	1 : 4 „	fehlt	normal
2127	$9^1/_2$	21	negativ	lebt	„
2132	$9^1/_2$	10	„	„	„
2133	$9^1/_2$	21	1 : 4 (8)	„	unvollkommen
2111	10	21	1 : 8 (32) (fädig)	„	„
2116		21	1 : 8 „	„	„
2117		I. 14	1 : (4)	„	„
		II. 21	1 : 8 (32)	„	normal
2120	$10^1/_2$	10	negativ	„	„
2125	$10^1/_2$	14	1 : 4 (16)	„	„
2128	$10^1/_2$	21	1 : (4)	„	unvollkommen
2139	$10^1/_2$	I. 10	1 : (4)	„	normal
		II. 21	negativ!	„	unvollkommen
2141	$10^1/_2$	I. 14	1 : 8 (16) (fädig)	„	„
		II. 21	negativ!	„	normal

Tabelle 4 (Fortsetzung).

Nr.	Immunität nach Wochen	Punktion nach Tagen	Agglutination	Pfeifferscher Versuch	Gerinnung
2142	$10^1/_2$	21	negativ	lebt	unvollkommen
2143	$10^1/_2$	I. 10	„	„	„
		II. 21	„	„	normal
2144	11	18	1:4 (8)	lebt	unvollkommen
2145	11	21	negativ	„	„
2169	30	10	negativ	lebt	unvollkommen
2151	$31^1/_2$	10	„	„	„
2163	$31^1/_2$	10	„	„	„
2153	$51^1/_2$	10	„	„	„
2160	$51^1/_2$	10	1:8 (fädig)	„	„

aber überleben. Alle anderen Meerschweinchen sind durch das Immunserum der Ratten ausreichend geschützt.

Das gegensätzliche Verhalten entspricht dem oben erwähnten Versuchen von Pfeiffer und Kolle in faulendem Serum.

Es ergibt sich also ein entgegengesetztes Verhalten der Agglutinine und der Lysine bei Aplasie und bei Mesotrophie.

1. Bei aplastischer Kost versagt bei der Hälfte der Tiere die Lysinbildung, während die Agglutininbildung bei allen Tieren erhalten bleibt.

2. Bei mesotrophischer Kost versagt bei den spät immunisierten Tieren in fast der Hälfte der Fälle die Agglutininbildung, während die Lysinbildung fast überall erhalten bleibt.

Nicht das Fehlen einzelner Vitamine, sondern der Gruppencharakter der Mangelkrankheiten scheint demnach der bestimmende Faktor bei der Bildung der Antikörper zu sein.

Das gleiche ergeben die histologischen Untersuchungen über die Veränderungen der Zähne, des Zahnhalteapparats und des Kiefers, über die gemeinsam mit Euler in der nächsten Mitteilung berichtet werden soll.

Einer besonderen Berücksichtigung bedarf die Ratte Nr. 2168.

Versuchsbeginn: 16. Mai 1936. Nach 87 Wochen (Januar 1938) täglich 1 mg Ascorbinsäure und 10 γ Lactoflavin (B_2). Der bis dahin typische Kurvenverlauf wird unruhig, teils steigend, teils fallend.

In der 95. Woche Beginn der Immunisierung: alle 5 Tage eine intraperitoneale Injektion von 2 Normalösen in $^1/_2$ ccm NaCl, abgetötet bei 56° C. Insgesamt 7 Injektionen. Tier nimmt dabei stark ab.

Bei der Narkose bekommt das Tier Springkrämpfe, wird dann schnell tief betäubt. Punktion bei kaum fühlbarem Herzschlag. Nach viermaligem Ansetzen 2 ccm Blut.

Das Serum wurde nach etwa 12 Stunden zentrifugiert, erwies sich als stark hämolysiert. Der Komplementversuch unterblieb, um Serum zu sparen.

Die Agglutination verlief wie in Tabelle 5 angegeben:

Tabelle 5.

Ablesung nach Stunden	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128
2	—	—	(+)	(+)	—	—
24	+	+	(+)	(+)	(+)	—
48	+	+	(+)	(+)	(+)	—

Nach 48 Stunden entwickelten sich fädige Netze. Es gab also zunächst eine Hemmungszone, dann eine schwache Agglutination, die in keinem Verhältnis zu der Höhe der Antigenmenge stand und unterhalb der bei den normalen und aplastischen Ratten entstehenden Höhe des Titers verlief.

Ganz andersartig verlief nun wieder die Lyse: Es wurden Verdünnungen 1:10, 1:50, 1:100 und 1:1000 hergestellt. In allen Fällen führte der Pfeiffersche Versuch zur Lyse. Benutzt wurde dazu die Menge 0,2 ccm der Verdünnung. Vibriolysine hatten sich also in solcher Menge gebildet, daß das Serum selbst in einer hochgradigen Verdünnung noch wirksam war.

Man kann demnach sagen: auch hier verhielten sich Agglutination und Lyse in entgegengesetzter Richtung.

Versuch 76. Versuche mit Pellagra-Kost 29.

Bei einer kleinen Reihe von Ratten (1165—1168, 1122—1124, 1224—1228) wurde die Diät 29 gegeben, die der Diät 18 entspricht, aber gleichzeitig einen höheren Magnesiumsulfatgehalt hat. Bei dieser Kost entsteht bei einer größeren Zahl von Tieren Pellagra, und die Magnesiumzulage führt zu einer Verkürzung der Lebensdauer. Wir finden auch bei dieser Kost Gewichtsabnahme. Der Agglutinationstiter ist niedrig [1:8 (16)]; der Pfeiffersche Versuch ist nicht geprüft, hingegen der Blutbakterizidie-Versuch angestellt. Er ergab eine Wirkung bis zur Verdünnung 1:64 (Ratte 1165 und 1166, 1123). Diese Versuche wurden nicht mehr fortgesetzt, da das Studium der eigentlichen mesotrophischen Kost im Vordergrunde stand. Sie weisen nur darauf hin, daß die zur Gewichtsabnahme führende Wirkung des Magnesiums schädlich ist und daß mehr das Bild der aplastischen Kostform erreicht zu werden scheint. Der Komplementgehalt war 1:4—1:8, also der Norm entsprechend.

Versuch 77. Mesotrophie-Kost bei Händlertieren verschiedener Herkunft und mit verschiedener Vordiät.

Erwähnt werden sollen hier noch die Tiere, die eine Diät 18 bekamen und in Tabelle 4 nicht mit aufgenommen wurden. Es handelt sich um Tiere, die aus verschiedenen Händlerzuchten in Breslau stammten und die ganz plötzlich ohne erkennbare Gründe in allen Vitaminversuchen versagten. Mündlich wurde uns mitgeteilt, daß entsprechende Beobachtungen auch in der Frauenklinik und in der Kinderklinik gemacht wurden. Im Interesse der Nachprüfung der hier gemachten Mitteilungen erscheint es aber notwendig, gerade diese Mißerfolge ebenfalls zu kennen.

Die Tiere reagierten hier sämtlich äußerst ungleichmäßig und zeigten nicht die für die mesotrophische Kost charakteristische fast horizontale Ge-

wichtskurve, sondern entwickelten alle einen ziemlich starken Gewichtsabfall. Es handelt sich sämtlich um mehr oder weniger geschädigte Tiere, die erst durch vollwertige Vorfütterung bzw. sorgfältigen Aufbau einer völlig einwandfrei ernährten Zucht zu der normalen mesotrophischen Reaktion gebracht werden müßten. Den Abfall dieser Gewichtskurven zu beachten, ist sehr wichtig, da sich daraus ergibt, daß der Abbaustoffwechsel stärker ist als bei der üblichen mesotrophischen Kost.

Das wird durch die histologische Untersuchung der Rattenrippen bestätigt. Wirkt die mesotrophische Kost richtig, dann kommt es zu einem sehr langsamen, protrahierten Gewichtsanstieg. Hier lassen sich Neubildungs- und Umbildungsvorgänge bis ins höchste Alter im Rippenknorpel nachweisen. Sobald aber die Kurve auch nur wenig sinkt, entwickeln sich sofort Atrophien. Die ausgebildet mesotrophische Ratte muß das Vermögen besitzen, in einem geringen Umfang Wuchsstoffe zu bilden, oder die vorhandenen immer wieder neu zu verwenden. Das Problem gleicht dem Verhalten des Vitamins C (s. 14. und 18. Mitteilung).

Die Immunisierungsversuche verlaufen bei Gewichtsabfall ganz ähnlich wie bei aplastisch ernährten Tieren. Tabelle 6 läßt erkennen, daß Agglutination wie bei normalen und aplastischen Tieren eintritt, während in den geprüften Fällen Lysine nur bei 8 Tieren gebildet, bei 6 Tieren nicht gebildet wurden. Die Prüfung der Blutbakterizidie nach Wright ist bei 2 Tieren (Nr. 1118 und 1119) negativ, bei den anderen positiv.

Wenn die Tiere nach 5 bzw. 6 Wochen der Kost immunisiert wurden, schien der Agglutinationstiter zu sinken, denn die Ablesung ergibt erst nach 24 bzw. 48 Stunden eine schwache Agglutination und die Frühreaktion tritt nicht auf. Aber auch hier sehen wir, daß die Ratten Nr. 1993 und 2008 keine Lysine gebildet haben.

Das Verhalten des Komplements.

In allen Fällen war die Hämolyse bei normalen, aplastischen und mesotrophischen Ratten in gleicher Höhe. Es fand sich keinerlei Einwirkung der einseitigen Diäten auf den Komplementgehalt (s. oben Jusatz). Die Hämolyse tritt ein in der Verdünnung von 1 : 1 bis 1 : 4.

Besonderheiten der Agglutination. Die „fädige" Agglutination.

Die Agglutination verlief bei der Mehrzahl der normalen Ratten völlig normal, d. h. es zeigte sich eine feinkörnige Agglutination. Je einseitiger aber die Tiere ernährt werden, namentlich bei der mesotrophischen Kost, desto mehr findet sich eine Veränderung des Agglutinationstyps. Zunächst besteht diese darin, daß die Agglutination selbst langsamer eintritt und sodann nicht zu der körnigen Form führt, sondern zu einer fädigen Agglutination.

Tabelle 6. Diät 8 mit Händlertieren verschiedener Qualität.

Nr.	Immunisierung nach Tagen	Punktion nach Tagen	Agglutination	Pfeifferscher Versuch	Wrightscher Versuch	
1117	10	10	1:32			
1118	10	21	1:64	tot	—	
1119	10	21	1:16	„	—	
1120	10	14	1:8 (36)			
1161	10	24	1:16 (32)	lebt	1:64	
1162	10	24	1:16 (fädig)	„	1:64	Anfangs-
1163	10	24	1:8	tot	1:64	hemmungs-
1164	10	24	1:8 (32)	lebt	1:64	zone
1219	10	21	1:32 (64) (fädig)			
1220	10	21	1:8 (16) „			
1221	10	21	1:8 (32) „			
1222	10	21	1:8 (32) „			
1223	21	21	1:(16) „	tot (0,2) 1:5		
1122	10	10	1:8 (16)			
1123	10	21	1:32 (64)	lebt	1:64	
1124	10	10	1:32			
1165	10	24	1:32 (64)		1:64	
1166	10	10	1:32 (128)		1:64	Anfangs-
1167	10	24	1:32 (128)			hemmung
1168	10	24	1:16 (128)			
1976	5. Woche	10	1:32 (fädig)	lebt		
1993	5. „	10	1:32 „	tot		
2008	5. „	10	1:(16)	„		
1744	6 Wochen	10	1:8 (nach 48 Std.)	lebt		
1746	6 „	10	1:8 (nach 24 Std.)	„		
1762	6 „	10	1:32 (nach 48 Std.)	„		

Die „fädige Agglutination" wurde erstmalig von Pfaundler beobachtet bei fieberhaften Coli- und Proteusinfektionen von Kindern in der Mischung nur der vom Kranken stammenden Mikroben mit dem Blutserum derselben Kranken. Pfaundler hielt diese Erscheinung für den Ausdruck einer im Organismus eingetretenen Individualisierung des Bakterienstammes unter dem Einfluß der Körperflüssigkeiten.

Die Untersuchung dieses Phänomens hat zu keiner endgültigen Aufklärung geführt. Einerseits ergab sich, daß man dazu junge Kulturen in schwach wirksamen Seren verwenden muß, andererseits glaubte man, ein der echten Agglutination gleichwertiges diagnostisches Verfahren darin sehen zu müssen. Bürgers lehnte das ab.

Und wenn man die Beobachtungen bei diesen einseitig ernährten Ratten zur Beurteilung dieser „fädigen Agglutination" verwenden darf, so darf man sagen: Voraussetzung ist zunächst eine schwere Schädigung des Serumspenders, sodann wahrscheinlich eine Schädigung der Bakterien. Doch ist das erstere von ausschlaggebender Bedeutung, da ja in den obengenannten Versuchen normale Vibrionen benutzt wurden.

Der Gerinnungsvorgang.

Der Gerinnungsvorgang bei den mesotrophischen Ratten war gegenüber den normalen und den meisten aplastischen Tieren deutlich ver-

ändert. Es fiel nämlich auf, daß die Gerinnung in den Reagensgläsern wesentlich langsamer eintritt, ja nach 24 Stunden konnte sie noch unvollkommen sein, und wenn man dann von solchem Serum die Agglutinationsreihen ansetzte, dann kam es zu netzartigen oder gelatinösen, quallenartigen Ausfällungen, die auf eine erst spät einsetzende Fibrinausflockung zurückzuführen waren. Hier bestand nun die Möglichkeit, daß es sich um eine starke Herabsetzung des Prothrombins oder des Thrombins handeln könnte. Infolgedessen wurden Untersuchungen über den Mechanismus dieser Gerinnungshemmung notwendig. Diese Untersuchungen wurden durchgeführt nach der Methode von Schönheyder, Kopenhagen, der sie an meinem Institut einführte.

Diese Untersuchungen führten aber dazu, daß sich kein Unterschied für den Prothrombin- bzw. Thrombokinasegehalt nachweisen ließ. Vielmehr gerann bei Zusatz von Calciumchlorid das Blut genau wie bei der Norm. Das schien ein völliger Versager zu sein.

Der Ausfall dieses Versuches war überraschend und störte das gesamte Bild, denn die verzögerte Gerinnung war doch andererseits in so zahlreichen Fällen der Mesotrophie aufgetreten, daß an dem Bestehen nicht zu zweifeln war. Die Aufklärung über die Ursache dieser Gerinnungsstörung ergaben erst später die Stoffwechseluntersuchungen. Dabei wurde gefunden, daß die mesotrophischen Ratten eine schwere Störung des Kalkstoffwechsels haben, und damit läßt sich auch erklären, daß die beobachtete Gerinnungshemmung auf das Fehlen freier Calciumionen zurückzuführen ist, bei deren Zusatz sofort die Gerinnung eintrat. Wir haben also das Bild der Mesotrophie noch dadurch vervollständigt, daß sie mit einer Gerinnungshemmung auf Grund des Fehlens von freien Calciumionen verbunden ist.

Diskussion der Befunde.

Am zweckmäßigsten ist es, die Reaktionen der mesotrophischen Tiere in den Vordergrund der Betrachtung zu stellen. Aus den früheren Untersuchungen (14. Mitteilung) geht hervor, daß es sich bei der Mesotrophie um einen an der unteren Grenze der Lebensmöglichkeit sich bewegenden Abbaustoffwechsel handelt, der mit einer sehr schwachen Produktionskraft einhergeht. Insgesamt resultiert daraus ein „unternormales Dasein". Durch die Beeinflussung des Gesamtstoffwechsels über die Brenztraubensäure wird ein allseitiger Abbau zwar möglich, findet aber auf einer tieferen Basis statt. Auf dieser Basis nun finden wir, daß Lysine nachgewiesen werden, Agglutinine aber mit zunehmender Dauer der Versuche nicht mehr oder nur außerordentlich spärlich auftreten.

Steigert man nun aber den Abbaustoffwechsel, entweder durch Zugabe von Magnesium oder durch Übergang zu der rein aplastischen Kost, dann kann man feststellen, daß auch die Agglutinine gebildet werden. Bei der rein aplastischen Kostform kommt es aber dann vielfach zu einem Ausfall an Lysinen.

Nun handelt es sich bei den aplastischen Kostformen um das Verhalten des reinen Abbaustoffwechsels, während es sich bei der Mesotrophie um eine wenn auch höchst schwache Eigenbildung von produktiven Faktoren zu handeln scheint, die aber weit unter der für normales Werden liegenden Menge liegt (s. oben, Ausführungen über das histologische Verhalten der Rippen und den lange erhaltenen Wachstumsprozeß, kenntlich an der Bildung der Säulenzone).

Daraus darf man folgern: Lysine setzen die Anwesenheit von produktiven Faktoren voraus, während Agglutinine vielleicht aus diesen Lysinen infolge des Abbaustoffwechsels entstehen, umgekehrt also, wie Wassermann es einst annahm (s. oben). Demnach würden beide Anteile zwar eine gemeinsame Wurzel haben, aber doch verschieden sein.

Daß oxydative bzw. anaerobe Vorgänge bei diesen Immunreaktionen beteiligt sein können, geht aus den Beobachtungen von Emmerich und Loew hervor, die z. B. bei Aerobiose im Reagensglas keine Blutbakterizidie fanden, wohl aber anaerob. Und P. Müller, ebenso Walker zeigten, daß Immunseren bei Sauerstoffausschluß stärkere keimtötende Eigenschaften besaßen (zit. nach Knorr, S. 734/5). Das weist auf die Mitbeteiligung des oxydativen Abbaustoffwechsels.

Gibt man nun aber Wuchsstoffe, oder haben die Tiere aus der Vorfütterung ausreichende Wuchsstoffe gespeichert, so kommt es zu der Lysinbildung, die in der Norm stattfindet, ebenso auch bei den noch lebensfähigen aplastischen Tieren in der Hälfte der Fälle noch eingetreten ist.

Diese Auffassung führt dazu, daß man die ausschlaggebende Wichtigkeit der Wuchsstoffe für die Antikörperbildung in Zukunft zu beachten und zu erforschen haben wird. Es handelt sich bei dieser Lysinbildung um eine fest an die lebensfähige Zelle gebundene Funktion im Sinne R. Pfeiffers: „spezifische Sekretion auf einen spezifischen Reiz". Sofern auch nur geringe plastische Fähigkeiten erhalten sind, entstehen wenigstens diese Lysine. Ob sie dabei im Tier selbst wirksam werden, im Sinne einer Infektabwehr, läßt sich natürlich noch nicht sagen. Dazu müßte man die Immunisierung mit Rattenparatyphus bei den mesotrophischen Tieren durchführen und sodann die Empfänglichkeit bei oraler Infektion feststellen.

Agglutinine aber erscheinen als davon abtrennbare Bildungen, die der Intensität des Abbaustoffwechsels unterworfen zu sein scheinen.

Die Wirkung der einzelnen bisher immer untersuchten Vitamine tritt gegenüber diesen großen Gruppenreaktionen des Abbaustoffwechsels vollkommen zurück. Zwar ist es möglich, durch Zugabe einzelner Stoffe den Abbaustoffwechsel zu steigern und dadurch eine vermehrte Antikörperbildung herbeizuführen, doch wird die Leistungsfähigkeit einer solchen Maßnahme die Grenze finden in der Gesamternährungslage und der Reaktionsbereitschaft des immunisatorisch oder reiztherapeutisch behandelten Körpers.

Es ergibt sich aber auch aus diesen Versuchen eine weitere Tatsache: Bei der Mesotrophie waren die bisher bekannten Vitamine als wirkungslos nachgewiesen worden. Hier sehen wir nun, daß das häufige Versagen der Vitamine durchaus darin seine Ursache haben kann, daß diese besondere unterste Grenze der Lebensmöglichkeit, der herabgesetzte mesotrophische Stoffwechsel in seiner Bedeutung für die Antikörperbildung und die Infektabwehr mitwirkte. Man schob auf Vitaminmangel, was in Wirklichkeit Folge von Wuchsstoffmangel einerseits, von Mesotrophie andererseits war. Und das Versagen vieler Vitaminversuche läßt sich damit auch zwanglos erklären.

Es ist verlockend, die hiermit eröffneten Möglichkeiten zu diskutieren. Leider ist die Methodik so zeitraubend und dadurch kostspielig, daß man nur mit sehr großen Forschungsmöglichkeiten an eine Beantwortung der vorliegenden Fragen gehen kann. Diese sehe ich auf folgenden Gebieten: Untersuchung des Verhaltens der Infektempfänglichkeit der mesotrophischen Ratten, insbesondere ihrer vielleicht gesunkenen natürlichen Widerstandsfähigkeit gegenüber Milzbrand und ähnlichen Bakterien, sowie den Tuberkelbazillen gegenüber. Sodann wird man angesichts der Beeinflussung des Stoffwechselabbaus bedeutungsvolle Unterschiede bei chemotherapeutischen Versuchen finden können. Und ebenso sind allgemein pharmakologische Versuche aussichtsreich. Denn bei der Mesotrophie handelt es sich um ein weit verbreitetes Gebiet von Mangelschäden, die auch für die Erkennung und Vorbeugung von menschlichen Erkrankungen von größter Bedeutung werden dürften.

Zunächst war es wesentlich, an einem so interessanten Problem, wie es die Antikörperbildung darstellt, zu zeigen, daß die Mitwirkung der Diät eine tiefergreifendere ist, als die bisherigen Vitaminversuche ergeben haben. Denn auf Grund der hier mitgeteilten Versuchsergebnisse kann man mit recht bestimmten Vorstellungen die Bildung der einzelnen Antikörper weiter verfolgen.

Die weitere Erforschung wird allerdings die chemische Identifizierung der Wuchsstoffe zur Voraussetzung haben. Vor allem aber: man wird das Studium der Lysine in den Vordergrund der Forschung zu stellen haben.

Auch für die Infektionsbereitschaft bei Rachitis sind die Ergebnisse von Bedeutung. Der „prärachitische" Zustand, der in der 16. Mitteilung beschrieben ist, hat eine so große Ähnlichkeit mit der Mesotrophie, daß er wahrscheinlich die Ursache der Infektionsbereitschaft ist, nicht der Mangel an Vitamin D.

Der Ausfall der hier zusammengefaßten Versuche beweist, daß die von mir vorgeschlagene Zusammenfassung der Mangelkrankheiten in bestimmte Stoffwechselgruppen geeignet ist, eine brauchbare Grundlage für die weitere Forschung zu schaffen, nicht nur auf dem Gebiet der Vitaminlehre, sondern auch im Gebiet der bakteriologisch-serologischen Forschung.

Zusammenfassung.

1. Bei Ratten mit normalen, aplastischen und mesotrophischen Kostformen wurden Immunisierungsversuche mit El Tor-Vibrionen angestellt.

2. Untersucht wurde das Verhalten der Agglutinine, Vibriolysine, des Komplements und des Gerinnungsvorgangs; in einigen Fällen auch die Blutbakterizidie (Wright).

3. Bei aplastischer Kost versagte in der Hälfte der Fälle die Lysinbildung, während die Agglutininbildung erhalten war. Bei mesotrophischer Kost versagte in etwa der Hälfte der Fälle die Agglutininbildung, während die Lysinbildung erhalten blieb.

4. Das Verhalten des Komplements zeigte nirgends eine Abweichung von der Norm.

5. Eine verspätete Gerinnung bei mesotrophischen Seren ließ sich auf Mangel an Calciumionen zurückführen.

6. Die Bedingungen für den Versuchsausfall werden eingehend erörtert.

7. Die Wichtigkeit der Zusammenfassung der bisherigen Mangelkrankheiten in die Gruppeneinteilung: Aplasie, Mesotrophie, Paraplasie wird durch den Ausfall dieser Versuche bewiesen.

8. Die praktischen und theoretischen Folgen aus diesen Versuchsergebnissen werden besprochen.

Literatur.

Arons u. van der Rijst: Z. Vitaminforsch. (Schwz.) **2**, 279 (1933). — Bieling, Dtsch. med. Wschr. **1927**, S. 182 u. 228. — Bieling: Z. Hyg. **104**, 631 (1925); **105**, 254 (1926); **106**, 188 (1926). — Bieling: Erzeugung der Antikörper. Handb. Path. Mikroorg. II./1. Teil, 3. Aufl. **1929**, S. 133 f. — Colebrook, Lubinski u. Meissner: Zbl. Bakter. usw., I., Orig. **116**, 294 (1930). — Cooper u. Gross: Z. Vitaminforsch. (Schwz.) **7**, 206 (1938). — Jusatz, Weichardts Erg. Hyg. usw. **19**, 464 (1937). — v. Euler: Z. Vitaminforsch. **3**, 303 (1934). — Ficker: Aktive Immunisierung und Herstellung von Antigenen. Handb. Path. Mikroorg. II, Teil 1, S. 1 f. — Freund: Z. Vitaminforsch. **2**, 225 (1933). — Gundel, György u. Pagel: Z. Hyg. **113**, 629 (1932). — Holtz, Naunyn-Schmiedebergs Arch. **182**, 98 (1936). — Jusatz: Z. Vitaminforsch. **6**, 176 (1937). — Jusatz: Erg. Hyg. usw. **19**, 464 (1937). — Knorr: Bakterizidie und bakteriolytische Stoffe des Blutes, Handb. Path. Mikroorg. 3. Aufl., 1929, II., Teil 2, S. 1 f. — Kraus, Kovacs u. Paltauf d. jr., Ebenda S. 987. — Lassen: Z. Vitaminforsch. **2**, 226 (1933). — Mouriquand, Rollet u. Chaix: Ebenda **2**, 69 (1933). — Oelrichs, Z. Hyg. **117**, 684 (1935). — Patel: Z. Vitaminforsch. **10**, 139 (1940). — Pfannenstiel, Z. exper. Med. **77**, 218 (1931). — Robertson u. Ross: Z. Vitaminforsch. **2**, 304 (1933). — Ross u. Robertson: Ebenda S. 224.

Die vorhergehenden Mitteilungen von Kollath in diesem Archiv, 15. Mitt., Bd. 198 (1941), S. 195, 16. Mitteilung zur Zeit im Druck. Zusammenstellung aller Arbeiten in Kollath: „Zur Einheit der Heilkunde", Hippokratesverlag, Stuttgart, 1942.

Aus dem Physiologischen Institut der I. G. Farbenindustrie A.-G. Werk Elberfeld.

Der Wirksamkeitsvergleich zweier chemisch verschiedener Östrogene.

(Östradiolbenzoat und Dioxydiäthylstilben-Dipropionat.)

Von

Ernst Huf.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 19. Januar 1942.)

Die Gruppe der natürlichen weiblichen Sexualhormone bildet ein gutes Beispiel dafür, daß auch die sorgfältig durchdachten, international gefaßten Auswertungsbeschlüsse u. U. nicht ausreichen können, um viele Fragen der Praxis in zufriedenstellender Weise zu beantworten. In den Jahren 1932 und 1935 wurde festgelegt (3, 4), daß grundsätzlich jede Follikelhormonauswertung vergleichend gegen eines der beiden internationalen Standardpräparate, Östron oder Östradiolbenzoat, vorzunehmen ist. Erst die Befolgung dieses Grundsatzes hat letzten Endes dazu geführt, daß sich die Therapie mit weiblichem Sexualhormon, sofern sie sinngemäß betrieben wird, ihren sicheren Platz im Rahmen anderer therapeutischer Maßnahmen erorbert hat. Insofern waren und sind die Standardpräparate von unbestrittenem Wert.

Schwierigkeiten für die Anwendung dieser Standarde ergeben sich aber immer dann, wenn man die Frage beantworten soll, welches Wirksamkeitsverhältnis zwischen einem der östrogenen Standardpräparate und einem Brunststoff von chemisch mehr oder weniger abweichender Zusammensetzung und Struktur besteht (1—8). Strenggenommen hat ja jeder Vergleich der Wirksamkeitsstärke zweier Östrogene die qualitativ gleiche Beschaffenheit derselben zur Voraussetzung, andernfalls kann man allgemein gültige Relationswerte nicht erwarten. Nun gibt es aber bekanntlich außer Östron und Östradiolbenzoat noch eine ganze Reihe von natürlichen, zum Teil reinen, zum Teil in Gemischen vorliegenden östrogenen Stoffen. Hierzu kommen dann noch die künstlich hergestellten Brunststoffe, unter denen die östrogenen Stilbene eine große praktische Bedeutung erlangt haben. Womit sollen die qualitativ vom Östron und Östradiolbenzoat verschiedenen Stoffe biologisch verglichen werden?

Burn (2) sagt: „In einer idealen Welt müßte es für jede einzelne Substanz einen Standard geben, dann wäre es nicht mehr nötig, einen quantitativen Vergleich zweier Substanzen, die qualitativ ungleich sind, anzustellen." Von diesem idealen Zustand ist man aber weit entfernt.

Wir wollen nun nicht näher schildern, wie man für die natürlichen Brunststoffe die angedeutete Schwierigkeit zum Teil behoben hat. Hierüber

gibt der „Bericht über die zweite Konferenz für die Standardisierung der Sexualhormone“ aus dem Jahre 1935 Auskunft (4).

Es soll dagegen hier noch einmal (5) untersucht werden, was sich nach dem Tierversuch über das Verhältnis der Uteruswachstumswirkung eines praktisch wichtigen östrogenen Stilbens, des 4, 4′-Dioxy-α-β-Diäthylstilben-Dipropionats (ferner kurz als Stilben B bezeichnet) und des Östradiolbenzoats aussagen läßt.

Diese Frage erscheint zwar von sehr speziellem Interesse. Sie spielte aber zur Zeit der Einführung des Stilbens B in der Therapie, als man noch gar nichts über die Dosierung des neuen Brunststoffs wußte, eine große Rolle. Jeder Arzt, der bisher das in „internationalen Einheiten“ oder in „internationalen Benzoateinheiten“ deklarierte natürliche Hormon anwandte, stellte verständlicherweise vor dem Gebrauch des Stilbens B die Frage, welche Wirksamkeitsbeziehung zwischen gleichen Gewichtsmengen von natürlichem und künstlichem Brunststoff nach dem Tierversuch zu erwarten ist. Heute, nachdem man z. B. weiß, daß zum Aufbau der menschlichen Uterusschleimhaut selbst bei Kastratinnen von Stilben B bei der Injektionsbehandlung 12,5 mg (gegenüber 25 mg Östradiolbenzoat) benötigt werden, kann bei der Deklaration des Stilbens B, da dieses eine chemisch reine, kristallisierte Verbindung darstellt, ohne weiteres auf jeden Vergleich mit dem Östradiolbenzoat verzichtet und nur in mg deklariert werden.

Damit aber kann die Frage der Deklaration von Stilben B als einwandfrei und befriedigend gelöst angesehen werden. Wir würden mit einer eigens diesem Thema gewidmeten tierexperimentellen Arbeit auch nicht mehr hervortreten, wenn uns nicht die Frage des Wirksamkeitsvergleichs von Östradiolbenzoat und Stilben B vom pharmakologischen Standpunkt aus als interessant und geeignet erscheinen würde, wieder einmal die ganzen Schwierigkeiten aufzuzeigen, die sich bei einem Wirksamkeitsvergleich zweier chemisch verschiedener Östrogene deshalb ergeben, weil die Praxis oft mehr fordert, als vom Pharmakologen tatsächlich geliefert werden kann: einen allgemein gültigen Relationswert bezüglich der Wirkungsstärke beider Stoffe. Die in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Versuche sowie deren Auswertung stellen einen Schritt auf dem Wege zur Erfüllung dieser Forderung dar, soweit diese das Verhältnis der Uteruswirksamkeit von Östradiolbenzoat und Stilben B betrifft.

Knüpfen wir nun an unsere früheren Untersuchungen an (5). Wir kamen dabei zu dem Ergebnis, daß Stilben B bei kastrierten Ratten sich als mindestens doppelt so wirksam wie Östradiolbenzoat erweist, wenn man den Uteruswachstumstest heranzieht. Es wurde von uns nicht versäumt, darauf hinzuweisen, daß diese Relation an bestimmte Versuchsbedingungen und bestimmte rechnerische Annahmen gebunden bleibt.

Eine der wesentlichsten Versuchsbedingungen war nun die, daß die Tötung der Tiere zwecks Präparation und Wägung der Uteri 10—13 Tage nach Beginn der Wirkstoffinjektionen erfolgte. Die nächstliegende Frage

war nun die, den Einfluß des Endtermins auf die Wirksamkeitsrelation zu verfolgen. In einigen schon mitgeteilten Vorversuchen (6) mit nur einer Dosis von beiden Wirkstoffen ergab sich, daß die stärkere Uteruswachstumswirkung des Stilbens B immer hervortrat, einerlei, ob die Versuche 2 oder 5 oder 10—11 Tage nach der ersten Injektion beendet wurden. Um nun quantitative Angaben machen zu können, waren ausgedehntere Versuche nötig. Vor allem mußten mehrere Dosen geprüft werden. Wir haben dann aber auch mehrere Endpunkte, und zwar 8 gewählt. Die Auswertung dieser Versuche hätte wie früher erfolgen können, wobei sich dann 8 Wirksamkeitsrelationen ergeben hätten.

Das Unbefriedigende einer solchen Auswertung wäre aber immer die durch die Wahl des Endtermins eingeschränkte Gültigkeit des Resultates gewesen. Es bot sich jedoch noch eine andere Möglichkeit der Auswertung, worauf ebenfalls schon früher kurz hingewiesen wurde (6). Die Versuche der oben genannten Art stellen ja nichts anderes dar, als die Verfolgung des am Uterus gemessenen zeitlichen Wirkungsablaufes bestimmter Mengen von Östradiolbenzoat und Stilben B. Es lag daher nahe, einen Stärkevergleich beider Wirkstoffe in der Weise vorzunehmen, daß man die von den Zeit-Wirkungskurven eingeschlossenen Flächen miteinander in Beziehung brachte. Bei einer solchen Betrachtung entfällt die Notwendigkeit, aus der Vielheit von möglichen Versuchsendterminen einen willkürlich auszuwählen, da das Ende des Versuchs durch den Ablauf der biologischen Reaktion des Uterus auf die Wirkstoffgabe hin selbst gegeben ist. Einer so gewonnenen Wirksamkeitsrelation durfte im Gegensatz zu der früher aufgestellten also eine allgemeinere Gültigkeit zuerkannt werden.

Es wird im folgenden nun auf die oben genannten Versuche sowie auf deren Auswertung unter Zugrundelegung der Wirkungsflächen näher eingegangen.

Tierversuche.

Infantile Rattenweibchen aus eigener Zucht wurden kastriert und nach $1^1/_2$ bis $3^1/_2$ Wochen in Versuch genommen. Zu diesem Zeitpunkt lag das Körpergewicht von 90% aller eingesetzten Ratten zwischen 30 und 60 g. Das niedrigste Einsatzgewicht betrug 26, das höchste 80 g. Bei der Verteilung der Tiere auf die unten genannten verschiedenen Gruppen wurde darauf geachtet, daß überall leichtere und schwerere Ratten gleichmäßig verteilt waren.

243 Tiere erhielten Östradiolbenzoat, 248 Stilben B. Da eine Anzahl von 491 Ratten auf einmal nicht zur Verfügung stand, so führten wir mit beiden Wirkstoffen 2 Versuche hintereinander in einem Abstand von 7 Wochen durch. Die in diesen Versuchen 1 und 2 ermittelten Uterusgewichte sind in den Tabellen 1 und 2 einzeln aufgeführt. Wir haben uns trotz dieser zeitlichen Differenz, da die beiden Versuche im übrigen völlig gleichartig durchgeführt wurden, doch für berechtigt gehalten, die beiden Versuche zusammen zu betrachten und alle einzelnen Uterusgewichte, soweit sie sich auf das frische Organ beziehen, zu einem Mittelwert zusammenzufassen.

Die geprüften Östradiolbenzoat- bzw. Stilben-B-Gesamtdosen waren: 0,6; 1,8; 5,4 γ. Demgemäß wurden die 243 bzw. 248 Versuchstiere in drei große Gruppen für jedes Präparat aufgeteilt. Es entfielen dadurch auf jede Dosis von Östradiol-

benzoat und Stilben-B etwa gleichviel, und zwar 77—84 Tiere. Hiervon wurden zu verschiedenen Zeiten nach der Behandlung eine bei allen Dosen etwa gleiche Anzahl von meistens 9—11, ausnahmsweise nur einmal 7—8 Tiere getötet. Die Tötungstermine waren der 1., 2., 3., 5., 7., 10., 15. und der 30. Tag nach Verabfolgung des Wirkstoffes.

Das Östradiolbenzoat (Mol = 376) wurde von reinem Östron ausgehend in unserem chemischen Laboratorium hergestellt. Der F.P. der kristallisierten Substanz betrug 191°. Als Stilben B (Mol = 380) verwandten wir den als Handelsprodukt unter der Bezeichnung „Cyren B" geführten östrogenen Wirkstoff. Auch hier wurde von der kristallisierten Substanz, die einen F.P. von 105° hatte, ausgegangen. Natürlicher und künstlicher Brunststoff waren in Sesamöl gelöst. Die gewählten Dosen waren immer in 0,2 ccm enthalten. Die gesamte Wirkstoffmenge wurde auf einmal subcutan injiziert. An dem darauf folgenden Tage wurden die ersten Tiere getötet.

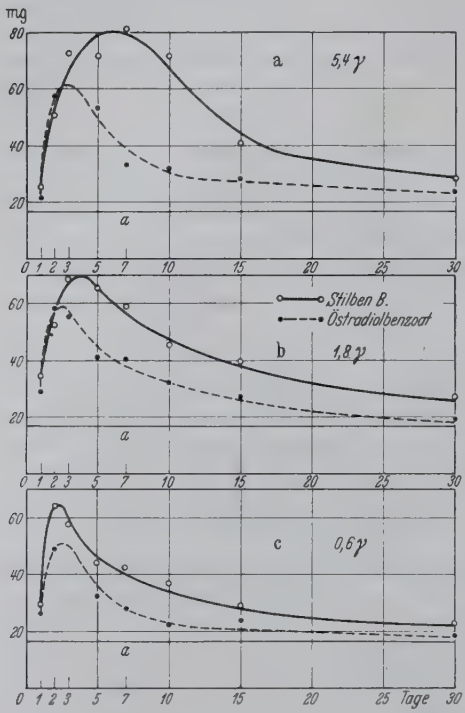


Abb. 1.

Die Ermittlung des Uterusgewichtes erfolgte ebenso wie früher (5). Diesmal haben wir aber nicht nur die frischen, sondern auch die fixierten Uteri gewogen. Als Fixationsmittel kam beim Versuch 1 Bouinsche Lösung [nach den Angaben von Burn (2) zusammengesetzt], beim Versuch 2 absoluter Alkohol zur Anwendung. Die nach Fixation in Alkohol festgestellten Uterusgewichte sind wieder zu Mittelwerten zusammengefaßt worden. Die betreffenden Zahlen sind in den Tabellen 1 und 2 kursiv gedruckt.

Parallel zu Versuch 1 lief ein Kontrollversuch mit 16 entsprechend schweren, kastrierten Ratten, die alle einmalig 0,2 ccm Sesamöl (leer) gespritzt bekamen. Je 2 Tiere wurden zu gleicher Zeit wie die Versuchstiere getötet. Da sich im Verlauf der 30 Versuchstage kein wesentlicher Unterschied in den Uterusgewichten der früher oder später getöteten Kontrollratten ergab, so haben wir beim Versuch 2 nur noch 3 Kontrolltiere am Ende des Versuchs getötet. Das aus 19 Einzelmessungen errechnete mittlere Kontrolluterusgewicht ergab sich zu 17 mg (frisch).

Die gesamten Ergebnisse dieser Versuche sind in den Tabellen 1 und 2 niedergelegt. Trägt man die dort aufgeführten Mittelwerte für die Frischgewichte der Uteri in ein Koordinatennetz ein, so erhält man den in Abb. 1 dargestellten Wirkungsablauf für die verschiedenen Dosen von Östradiolbenzoat (gestrichelte Kurven) und Stilben B (ausgezogene Kurven).

Tabelle 1. Versuche mit Östradiolbenzoat.

Gewichte beider Ovarien zusammen in mg. Kursivgedruckte Zahlen: Gewichte nach Fixation in abs. Alkohol. Darüberstehende Zahlen: Gewicht nach Fixation in Bouinscher Lösung. Versuch 1 vom 18. August—17. September 1941. Versuch 2 vom 13. Oktober bis 11. November 1941.

Dosis γ	Versuch Nr.	Anzahl der Tage, nach denen die Tiere getötet wurden															
		1		2		3		5		7		10		15		30	
		frisch	fix.	frisch	fix.	frisch	fix.	frisch	fix.	frisch	fix.	frisch	fix.	frisch	fix.	frisch	fix.
0,6	1	22	22	37	35	45	39	32	28	27	25	15	13	27	24	17	14
		27	26	70	62	47	44	52	48	34	32	20	18	25	23	15	11
		25	25	30	33	33	29	31	27	22	20	21	19	23	20	16	14
		19	19	39	28	50	42	35	33	28	24	22	22	24	21	10	9
		24	24	36	30	50	39	23	24	26	25	20	17	25	24	19	17
		20	19	47	42	38	32	29	27			16	16			22	20
	2	22	*5*	96	*50*	29	*13*	42	*19*	24	*12*	24	*12*	26	*12*	25	*13*
		72	*30*	43	*19*	80	*40*	35	*17*	31	*16*	26	*13*	20	*9*	24	*11*
		20	*7*	54	*23*	72	*33*	29	*16*	37	*17*	34	*18*	28	*11*	20	*11*
		18	*5*	41	*16*	65	*28*	32	*16*	34	*15*	20	*11*	22	*8*	16	*7*
								23	*10*	24	*9*	33	*19*			23	*12*
	Mittel	26,9	*11,7*	49,3	*27,0*	50,9	*28,5*	33,0	*15,6*	28,7	*13,8*	22,8	*14,6*	24,5	*10,0*	18,8	*10,8*
1,8	1	22	22	41	40	50	34	36	36	44	43	27	24	19	18	22	19
		26	22	97	91	56	47	42	41	27	25	38	38	34	31	24	17
		21	17	38	29	36	33	32	32	33	32	29	24	29	29	17	15
		23	20	45	39	39	33	32	32	46	40	55	49	25	20	18	14
		24	18	55	45	64	50	59	58	38	35	20	20	23	20	22	19
		13	11	47	36	35	30	27	25	43	39	40	40	26	22		
	2	21	*10*	49	*20*	62	*28*	24	*11*	34	*13*	25	*13*	44	*19*	16	*8*
		96	*44*	124	*58*	79	*33*	78	*13*	42	*17*	26	*15*	22	*8*	20	*10*
		30	*10*	42	*18*	72	*34*	57	*28*	76	*33*	24	*14*	23	*8*	24	*13*
		20	*8*	48	*20*	63	*31*	27	*13*	38	*15*	40	*20*	28	*11*	17	*8*
								40	*17*	26	*10*	32	*20*	29	*13*	19	*10*
	Mittel	29,6	*18,0*	58,6	*29,0*	55,6	*31,5*	41,3	*16,5*	40,7	*17,6*	32,4	*16,5*	27,4	*11,8*	19,9	*9,8*

Tabelle 1 (Fortsetzung).

Dosis	Versuch Nr.	Anzahl der Tage, nach denen die Tiere getötet wurden															
		1		2		3		5		7		10		15		30	
γ		frisch	fix.	frisch	fix.	frisch	fix.	frisch	fix.	frisch	fix.	frisch	fix.	frisch	fix.	frisch	fix.
5,4	1	17	17	53	53	68	58	35	34	32	30	18	18	29	27	23	20
		24	22	63	42	67	54	66	56	31	29	26	24	28	23	19	17
		24	20	49	41	69	54	42	35	36	34	25	25	28	26	23	21
		26	26	35	29	42	37	48	46	36	34	42	42	23	18		
		21	18			58	48	47	45	27	23	30	28	27	26		
		24	19			61	50	50	50			31	28	23	18		
	2	21	*8*	50	*22*	69	*37*	69	*34*	36	*14*	36	*22*	32	*12*	34	*17*
		21	*8*	111	*52*	55	*30*	70	*33*	30	*13*	29	*20*	32	*13*	17	*8*
		22	*9*	61	*26*	46	*28*	70	*26*	39	*17*	44	*28*	33	*14*	24	*14*
		18	*8*	52	*22*	83	*35*	45	*19*	35	*17*	33	*21*	27	*11*	28	*16*
								47	*21*			20	*20*	28	*11*		
	Mittel	21,8	*8,1*	58,0	*30,5*	61,8	*32,5*	53,5	*26,6*	33,6	*15,2*	32,2	*22,2*	28,2	*12,2*	24,0	*13,7*

Der Anstieg des Uterusgewichtes in den ersten Tagen erfolgt mit beiden Wirkstoffen ziemlich gleichartig. Bei der Dosis 0,6 γ wurde jedoch auch schon nach 2 Tagen mit Stilben B ein Uterusgewicht erzielt, das deutlich über dem mit Östradiolbenzoat erreichten lag. Eine entsprechende Beobachtung hatten wir früher bei Anwendung von 5 γ Stilben B bzw. Östradiolbenzoat (sechsfach unterteilt gegeben) schon machen können. Wir können also sagen: Beurteilt nach dem Uterusgewicht kann sich schon nach 2 Tagen die Überlegenheit des Stilben B gegenüber dem Östradiolbenzoat zeigen. Ein solches Ergebnis scheint jedoch für diesen Zeitpunkt nicht mit Sicherheit aufzutreten. Bei unseren Prüfungen hat sich aber ein umgekehrtes Wirksamkeitsverhältnis, d. h. eine Überlegenheit des Östradiolbenzoats gegenüber dem Stilben B auch bei Abbruch des Versuches 2 Tage nach der Behandlung nicht erkennen lassen.

Vom dritten Versuchstag ab trat die stärkere Uteruswirksamkeit des Stilben B in allen geprüften Dosen einwandfrei hervor. Während die Östradiolbenzoatkurven am zweiten und dritten Tage ihr Maximum erreicht haben und dann wieder einen abwärts gerichteten Verlauf annehmen, steigen die Stilben B-Kurven noch deutlich über dieses Maximum hinaus. Der Gipfelpunkt der Stilben B-Kurve liegt je nach der Dosis

Tabelle 2. Versuche mit Stilben B.

Gewichte beider Ovarien zusammen in mg. Kursivgedruckte Zahlen Gewichte nach Fixation in abs. Alkohol. Darüberstehende Zahlen Gewichte nach Fixation in Bouinscher Lösung. Versuch 1 vom 18. August—17. September 1941. Versuch 2 vom 13. Oktober bis 11. November 1941.

Dosis γ	Versuch Nr.	Anzahl der Tage, nach denen die Tiere getötet wurden															
		1		2		3		5		7		10		15		30	
		frisch	fix.	frisch	fix.	frisch	fix.	frisch	fix.	frisch	fix.	frisch	fix.	frisch	fix.	frisch	fix.
0,6	1	26	25	60	40	70	54	38	36	27	12	33	33	37	35	22	19
		30	29	55	46	80	65	42	41	30	24	53	50	38	38	20	18
		25	19	59	44	66	54	25	33	49	45	44	44	34	29	26	23
		20	19	70	57	52	42	30	30	83	75	44	38	30	26	20	17
		25	25	70	65	52	42	43	43	29	29	19	13	40	34	18	15
		21	18	50	41	83	66	49	44			27	27	29	28	26	24
	2	81	*34*	101	*59*	51	*21*	38	*16*	56	*28*	37	*23*	23	*17*	21	*11*
		30	*5*	61	*25*	41	*17*	71	*34*	40	*20*	43	*25*	25	*6*	23	*23*
		23	*10*	49	*22*	56	*26*	60	*25*	24	*10*	27	*17*	20	*10*	23	*23*
		18	*8*			30	*15*	34	*13*	47	*23*	46	*25*	19	*9*	33	*33*
								60	*26*	44	*22*			28	*12*	23	*23*
	Mittel	29,9	*14,3*	64,0	*35,3*	58,1	*19,7*	44,5	*22,8*	42,9	*20,6*	37,3	*22,5*	29,4	*10,8*	23,2	*22,6*
1,8	1	20	20	44	39	73	57	52	51	87	83	54	53	29	27	31	29
		26	26	55	47	78	68	80	79	96	82	64	64	34	31	25	22
		25	22	42	35	68	54	73	68	41	41	68	66	47	46	28	25
		29	27	58	49	58	46	37	35	63	55	25	24	29	27	20	16
		24	21	55	46	87	79	92	90	55	50	31	30	46	39		
		29	28	52	45	102	85	50	50			24	24	51	41		
	2	51	*21*	55	*24*	53	*25*	69	*33*	39	*20*	52	*30*	48	*21*	28	*14*
		96	*44*	74	*35*	50	*26*	42	*19*	71	*33*	38	*23*	57	*26*	34	*19*
		30	*10*	47	*21*	69	*35*	62	*18*	41	*21*	36	*23*	40	*17*	23	*12*
		16	*8*	48	*25*	76	*37*	94	*45*	35	*17*	66	*35*	33	*13*	27	*13*
						45	*17*	73	*31*	66	*30*			26	*11*	30	*15*
	Mittel	34,6	*20,8*	53,0	*26,3*	69,0	*28,0*	65,8	*29,2*	59,4	*24,2*	45,8	*27,8*	40,0	*17,4*	27,3	*14,6*

Tabelle 2 (Fortsetzung).

Dosis	Versuch Nr.	Anzahl der Tage, nach denen die Tiere getötet wurden															
		1		2		3		5		7		10		15		30	
γ		frisch	fix.	frisch	fix.	frisch	fix.	frisch	fix.	frisch	fix.	frisch	fix.	frisch	fix.	frisch	fix.
5,4	1	35	32	52	45	56	47	92	91	80	72	80	73	32	31	28	25
		28	25	43	42	79	69	44	44	80	79	60	57	40	37	25	23
		27	26	49	40	59	50	78	73	99	89	62	61	55	49	25	22
		25	24	73	69	64	56	64	61	75	67	49	49	70	67	25	23
		26	24	44	32	78	58	86	86	83	63	130	122	43	42	28	24
		19	18	45	37	78	67	48	47	97	90	71	67	39	35	28	26
	2	24	*10*	40	*31*	81	*36*	73	*34*	117	*63*	77	*40*	47	*12*	23	*12*
		27	*12*	60	*32*	98	*47*	74	*38*	100	*58*	77	*40*	24	*11*	38	*20*
		26	*12*	50	*26*	68	*23*	93	*32*	35	*12*	67	*33*	30	*12*	32	*17*
		20	*8*	55	*28*	76	*32*	67	*43*	60	*18*	40	*23*	33	*14*	32	*16*
						72	*35*	73	*31*	64	*29*			60	*25*		
	Mittel	25,7	*10,5*	51,1	*26,8*	73,5	*34,2*	72,0	*35,6*	81,0	*36,0*	71,3	*24,0*	41,2	*14,8*	28,5	*16,3*

verschieden und ist für 0,6 γ nach 2—3, für 1,8 γ nach 4—5, für 5,4 γ nach etwa 6 Tagen erreicht. Dann klingt auch hier die Wirkung ab. Immer aber liegt die Stilben B-Kurve weit über der Östradiolbenzoatkurve, d. h. immer wurden nach Anwendung von Stilben B die höheren, nach Gabe von Östradiolbenzoat die niedrigeren Uterusgewichte gefunden. Am 30. Versuchstag war die Wirkung beider Brunststoffe so gut wie abgeklungen; die Wirkung von 0,6 γ zeigte schon früher ihr Ende. Auch nach 30 Tagen konnte aber gegenüber den Uteri der unbehandelten Kontrollratten noch eine Restwirkung gesehen werden. Nach dem Kurvenverlauf ist aber anzunehmen, daß auch dieser Resteffekt nach Ablauf weiterer Wochen verschwunden wäre. Mit Rücksicht darauf, daß die Uterusgewichte der Versuchstiere nur noch wenig über denen der Kontrolltiere lagen, haben wir den Versuch am 30. Tage nach der Behandlung beendet.

In jedem der Diagramme der Abb. 1 findet man eine zur Abszisse Parallele a in Höhe des mittleren Kontrolluterusgewichtes (17 mg) eingetragen. Legt man nun noch durch den Anfangs- und Endpunkt der Kurven senkrechte Schnittlinien, so umschließen die Kurven bestimmte Flächen, die wir als Wirkungsflächen bezeichnen wollen. Dieser Begriff gewinnt an Anschaulichkeit, wenn man sich die Ordinate anstatt in mg Organgewicht in cmm Organ-

volumen unterteilt denkt. Die Wirkungsfläche drückt dann die innerhalb der Beobachtungszeit eingehaltene Uterusvergrößerung aus. Die Größe des Kontrolluterus wird in den Diagrammen durch eine zwischen der Abszisse und der Linie *a* liegende Fläche dargestellt, die in vorliegendem Falle links und rechts durch zwei in den Zeitpunkten 1 und 30 zu errichtende Ordinaten zu begrenzen wäre. Diese Fläche soll Grundfläche genannt werden.

Es ergibt sich aus Abb. 1 nun, daß bei allen drei Dosierungen die Stilben B-Wirkungsflächen größer sind als die Östradiolbenzoat-Wirkungsflächen. Dies gilt nicht nur, wenn man die frischen, sondern auch, wenn man die nach Fixation in Alkohol oder Bouinscher Lösung gemessenen Uterusgewichte in Betracht zieht.

Der Wirkungsvergleich zwischen Östradiolbenzoat und Stilben B.

Auf dem Unterschied in der Größe der Wirkungsflächen gründet sich nun das im folgenden durchgeführte Verfahren des quantitativen Vergleichs zwischen Östradiolbenzoat und Stilben B hinsichtlich ihrer Uteruswirksamkeit.

Zunächst mußten die Flächen ausgemessen werden. Wir haben hierzu das bekannte Verfahren der Auswägung benutzt. Die in dem Maßstab, 1 Tag und 10 mg entsprechen 1 cm, auf guten Karton aufgezeichneten Wirkungsflächen wurden ausgeschnitten und gewogen. 1 cm² des Kartons wog 29.4 mg. Die auf diese Weise ermittelten Größen der Wirkungsflächen sind in Tabelle 3 angegeben.

Tabelle 3.
Größe der Wirkungsflächen.

Dosis	Wirkungsfläche in cm² bei	
γ	Östradiolbenzoat	Stilben B
0,6	21,1	45,2
1,8	37 3	69,0
5,4	40,8	92,1

Man ersieht daraus gut das Ansteigen der Größe der Wirkungsflächen mit der Dosis. Die Wirkungsfläche des Stilbens B ist bei jeder Dosis etwa doppelt so groß wie die des Östradiolbenzoats. Da es aber allgemein üblich und auch richtig ist, bei einem Wirkungsvergleich zweier Substanzen nicht von der Wirkung gleicher Dosen, sondern von der Dosis gleicher Wirkung auszugehen, so haben wir uns auch hier, ebenso wie früher, die Frage gestellt, welche Dosen von beiden Östrogenen zur Erzielung einer bestimmten Wirkung erforderlich sind.

Jeder Prüfer hat natürlich freie Wahl, welche Wirkung er der quantitativen Auswertung zugrunde legen will. Wir hatten z. B. früher, als wir noch von dem am 10. Tag nach der letzten Injektion ermittelten Uterusgewicht ausgingen (5), eine Verdoppelung des Uterusgewichtes gegenüber den Kontrolltieren gefordert. Ähnlich könnte man bei der Auswertung mittels der Wirkungsflächen vorgehen. Man müßte dann von der Grundfläche ausgehen, die in unserem Fall 49,2 cm² beträgt. Die zu lösende

Aufgabe bestünde nun darin, diejenige Dosis von Östradiolbenzoat und Stilben B zu ermitteln, die innerhalb der 30 Tage, während derer praktisch die ganze Wirkung abläuft, eine Wirkungsfläche von der Größe der Grundfläche entstehen läßt, sodaß, anders gesagt, die gesamte zwischen Kurve und Abszisse liegende Fläche etwa doppelt so groß wie die Grundfläche wäre.

Diese an die Wirkstoffe gestellte Anforderung scheint nun doch recht hoch zu sein. Wir haben bei einer Reihe von Fachgynäkologen einmal angefragt, mit welcher Uterusvergrößerung sie z. B. beim Kaufmannschen Aufbauversuch an einer Kastratin mit 25 mg Östradiolbenzoat rechnen. Die Meinungen waren recht verschieden. Einige veranschlagten glatt eine Verdoppelung des Volumens, andere, und zwar die meisten, waren sehr viel zurückhaltender und setzten die Vergrößerung mit etwa 30% an.

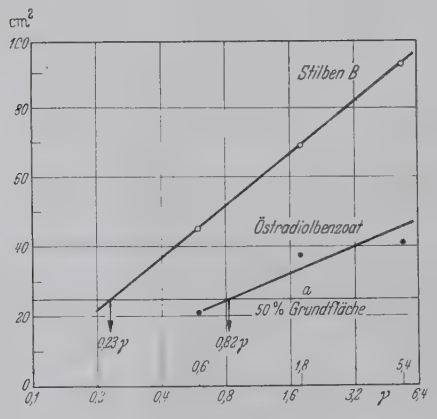


Abb. 2.

Um nun bei unserem Wirksamkeitsvergleich keine höheren Anforderungen an die Wirkstoffe zu stellen, als man das bei der Follikelhormontherapie, insbesondere hypohormonal bedingter Abweichungen des menschlichen Uterus tut, so haben wir nun die Bedingung gestellt, daß diejenigen Dosen von Östradiolbenzoat und Stilben B verglichen werden, deren Wirkungsflächen nicht 100%, sondern nur 50% von der Größe der Grundfläche betragen.

Hält man sich hieran, so ergibt sich aus den Diagrammen (s. Abb. 2), daß das Stilben B etwa 3,5mal so stark uteruswirksam ist wie Östradiolbenzoat. In diesen Diagrammen sind die in der Tabelle 3 enthaltenen Flächenwerte für die verschiedenen Wirkstoffdosen eingezeichnet. Beim Stilben B zeigt sich, daß die Punkte sehr gut auf eine Gerade fallen, beim Östradiolbenzoat macht sich eine Streuung bemerkbar. Die beiden Diagramme werden von der Horizontalen *a* geschnitten; sie zeigt eine Wirkungsfläche an, die 50% des Inhaltes der Grundfläche, also 24,6 cm² beträgt. *a* schneidet das Stilben B-Diagramm zwar außerhalb des gemessenen Bereiches; da dieses Diagramm aber durch drei Punkte sehr gut festgelegt ist, so wird man auch die Lage des außerhalb gelegenen Schnittpunktes als gut fixiert ansehen dürfen. Beim Östradiolbenzoat fällt der Schnittpunkt des Diagramms mit *a* noch in den gemessenen Bereich. Die diesen Schnittpunkten entsprechenden Wirkstoffdosen betragen nun für

das Östradiolbenzoat 0.82 γ, für das Stilben B 0.23 γ, was, wie oben schon erwähnt, besagt, daß Stilben B 3.5mal so wirksam auf den Uterus ist wie Östradiolbenzoat.

Es soll im folgenden nun noch untersucht werden, mit welcher Sicherheit diese 3.5fache Überlegenheit des Stilbens B gegenüber dem Östradiolbenzoat vertretbar ist. Eine Kritik muß vor allem folgendes zur Sprache bringen:

Gegen den hier vorgebrachten Vergleich mit Hilfe der Wirkungsflächen kann zunächst der Einwand erhoben werden, daß auch nach 30 Tagen die Wirkung der beiden Östrogene noch nicht völlig abgeklungen war. Zur Abgrenzung der Wirkungsflächen sind die Kurven der Abb. 1 im Zeitpunkt „30 Tage" abgeschnitten worden. Es läßt sich aber schon abschätzen, daß sich das genannte Wirksamkeitsverhältnis nicht wesentlich ändern kann, wenn man einmal voraussetzt, die Kurven liefen alle nach dem Zeitpunkt „30 Tage" aus. Die genauere, wie oben beschrieben durchgeführte Auswertung ergibt dann auch in der Tat für diesen Fall immer noch eine 3,1fache Überlegenheit des Stilbens B.

Man muß sich weiterhin die Frage vorlegen, ob nicht der Endpunkt „30 Tage" für einige in der Abb. 1 gezeichnete Fälle zu spät gewählt ist. Besonders beim Östradiolbenzoat haben sich die Kurven des Wirkungsablaufs meist schon vor 30 Tagen der Horizontalen a so weit genähert, daß etwa vom 10. bis 15. Tag ab der weitere Kurvenverlauf sehr flach ist. Jede Verlängerung des Versuchs muß sich dann aber bei der Auswertung gerade dieser Fälle nachteilig auswirken, da das Verhältnis Wirkungsfläche/Grundfläche rasch abnimmt, rascher als bei jenen anderen, vor allem Stilben B-Fällen, bei denen die Kurven am 30. Versuchstag noch nicht einen der Horizontalen a stark angeglichenen Verlauf angenommen haben. Beim 30-Tage-Versuch ist also das Östradiolbenzoat gegenüber dem Stilben B im Nachteil.

Um nun auch einmal den umgekehrten Fall zu berücksichtigen, haben wir eine Auswertung mit den nach 15 Tagen erzielten Wirkungsflächen vorgenommen. Die Begrenzung dieser Flächen links und rechts geschah wieder durch Schnittlinien, die durch die Zeitpunkte 1 und 15 gelegt wurden. Die Grundfläche betrug hier 23.9 cm². Das Resultat dieser Auswertung, die im einzelnen genau so wie oben geschildert durchgeführt wurde, war, daß sich das Stilben B 1,8mal so wirksam wie Östradiolbenzoat erwies.

Die zuletzt gemachten Ausführungen zeigen, daß auch bei dem Verfahren der Auswertung mit Hilfe der Wirkungsflächen die Wahl des Endpunktes eine gewisse Rolle spielt. Man kann aber, wie wir hier gezeigt haben, zwei Relationswerte finden, von denen der eine eine Benachteiligung des Östradiolbenzoats gegenüber dem Stilben B, der andere umgekehrt eine Benachteiligung des Stilbens B gegenüber dem Östradiolbenzoat darstellt.

Als Gesamtergebnis zeigen die voranstehend geschilderten Versuche und kritischen Betrachtungen, daß bei der kastrierten Ratte das Stilben B dem Östradiolbenzoat ganz eindeutig um das Zwei- bis Dreifache an Uteruswachstumswirkung überlegen ist. Die an die Wirkstoffe gestellten Anforderungen sind dabei die gleichen wie diejenigen, die man bei ihrer therapeutischen Anwendung, insbesondere zur Behandlung hypohormonal bedingter anatomischer Abweichungen bzw. funktioneller Störungen des menschlichen Uterus stellt.

Zusammenfassung.

Frühere Untersuchungen an kastrierten Ratten hatten ergeben, daß Dioxydiäthylstilben-Dipropionat (Stilben B) mindestens doppelt so stark auf das Uteruswachstum wirkt wie Östradiolbenzoat. Diese Angabe war zunächst an ganz bestimmte Versuchsbedingungen gebunden. Um nun einen allgemeiner gültigen Relationswert zu erhalten, wurden weitere Versuche an kastrierten Ratten durchgeführt und nach einem neuen Prinzip ausgewertet.

243 Tiere erhielten Östradiolbenzoat, 248 Stilben B, 19 Tiere blieben unbehandelt. Die Versuchsratten waren in drei Gruppen unterteilt worden, die mit 0,6 bzw. 1,8 bzw. 5,4 γ Wirkstoff behandelt wurden. Nach Ablauf von 1, 2, 3, 5, 7, 10, 15, 30 Tagen wurden etwa 10 Tiere jeder Gruppe gleichzeitig zwecks Präparation und Ermittlung des Uterusgewichtes getötet. Auf diese Weise ließen sich Kurven gewinnen, die den Wirkungsablauf von Östradiolbenzoat bzw. Stilben B darstellten. Nach 30 Tagen war die Wirkung auf den Uterus fast abgeklungen. Die von den Kurven und einer zur Abszisse in Höhe des mittleren Kontrolluterusgewichtes gelegten Parallelen eingeschlossenen Flächen (Wirkungsflächen) wurden ausgemessen und zur Ermittlung des Verhältnisses der Uteruswirksamkeit der beiden Wirkstoffe herangezogen. Bei allen drei Dosierungen waren die Stilben B-Wirkungsflächen etwa doppelt so groß wie die Östradiolbenzoat-Wirkungsflächen. Die genauere Auswertung mit Hilfe der Wirkungsflächen hat ergeben, daß Stilben B bei der kastrierten Ratte eindeutig zwei- bis dreimal so stark auf das Uteruswachstum einwirkt wie Östradiolbenzoat.

Literaturverzeichnis.

1) Behrens, Heubner, Koll u. Külz: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **186**, 121 (1937). — 2) Burn: Biologische Auswertungsmethoden. Berlin, Springer, 1937. — 3) Bulletin trimestriel de l'organisation d'hygiène. Genf, Januar 1935, S. 120. — 4) Ebenda September 1935, S. 631. — 5) Huf: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, 415 (1941). — 6) Huf: Klin. Wschr. **20**, 1008 (1941). — 7) Pedersen-Bjergaard: Ugeskrift for Laeger **101**, 383 (1939). — 8) Weyland u. Grab: Medizin und Chemie, „Bayer" I. G. Farbenindustrie A.-G., Leverkusen **3**, 173 (1936).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Greifswald.

Über experimentelle Silber- und Goldverfärbungen der Haut.

Von

Gerhart Urban.

Mit 4 Textabbildungen (5 Einzelbildern.)

(Eingegangen am 20. Februar 1942.)

Die Verwendung der Edelmetalle in der Therapie ist seit langer Zeit gebräuchlich. Abgesehen von dem heute noch geübten, vielseitigen Gebrauch zu äußerlichen Zwecken war das Silber als innerliches Mittel bei der Behandlung von Magen-Darmerkrankungen und Nervenleiden hoch geschätzt. Goldverbindungen spielen hauptsächlich in der Tuberkulosetherapie eine Rolle. Das Silber hat sich als weitgehend ungiftig für den menschlichen Organismus erwiesen, wohingegen nach Golddarreichung Schädigungen der Nieren, der Haut und der Schleimhäute bekannt geworden und sogar Todesfälle zu verzeichnen gewesen sind.

Bei langdauernder Zufuhr von Silber- und Goldverbindungen entstehen häufig die als Argyrosis und Chrysosis bezeichneten Verfärbungen der Haut und inneren Organe, die durch abgelagertes Silber- oder Goldpigment hervorgerufen werden. Schädliche Auswirkungen für die Gesundheit der Betroffenen pflegen diese Verfärbungen meist nicht nach sich zu ziehen, wenn man von der erheblichen kosmetischen Verunstaltung absieht, die gelegentlich zu psychischen Depressionen Veranlassung gibt.

In pharmakologischer Hinsicht bieten die Hautverfärbungen durch Silber und Gold mancherlei Interessantes; denn sie gestatten einen Einblick in die Veränderungen, denen Silber- und Goldverbindungen im Organismus unterliegen. In den Hautverfärbungen wird gleichsam das Schicksal des Silbers und Goldes deutlich, das ihnen im lebenden Organismus zuteil wird. Da die Argyrosis cutis und Chrysosis cutis ziemlich unverändert bestehen bleiben, ohne daß die abgelagerten Edelmetallpigmente noch Wirkungen auszuüben scheinen, läßt dieses Verhalten die Deutung zu, daß es sich um Endzustände von Entgiftungsvorgängen handelt. Vielleicht strebt der Körper ganz allgemein durch ähnliche Reaktionen eine Entgiftung zugeführter Metallverbindungen an.

Deshalb erschien es lohnend, die Entstehung von Silber- und Goldverfärbungen an der Haut experimentell zu studieren.

A. Silber.

Durch Höllenstein hervorgerufene Argyrosen sind verhältnismäßig selten geworden, nachdem die innerliche Anwendung von Silbernitrat in Form der sogenannten Silberpillen bei Ulcus ventriculi, Gastroenteritis, Tabes und multipler Sklerose mehr und mehr zugunsten besserer Mittel aufgegeben wurde, welche kein Silber enthalten. Immerhin findet man noch in der deutschen Literatur der letzten 20 Jahre eine nicht unbeträchtliche Anzahl von Hinweisen [1–9] auf das Vorkommen von Hautargyrosen nach medikamentöser Darreichung von Silbernitrat. Kugelmeier [2] hebt besonders hervor, daß manchen Ortes die innerliche Anwendung des Höllensteins noch heute üblich sei. In der ausländischen Literatur wurden ebenfalls einige Fälle von Hautargyrosen nach Silbernitrat aufgeführt [10–14, 15–22].

Die Fähigkeit, derartige Verfärbungen der Haut und auch der inneren Organe, wie Darm, Niere, Milz, Leber, Plexus Chorioidei u. a. hervorzurufen, ist aber nicht allein dem Höllenstein eigen, sondern kommt fast jedem anderen Silberpräparat anorganischer oder organischer Natur zu, sofern es löslich ist oder im Körper in eine lösliche Form übergeht. Bei dem Bestreben der Industrie, neue Silberpräparate von milderen Eigenschaften, als sie das Silbernitrat besitzt, aus ganz anderen Indikationsstellungen heraus in den Arzneischatz einzuführen, kann es daher nicht wundernehmen, daß neuerdings wieder mehr Fälle beschrieben wurden, bei denen es nach längerer Aufnahme solcher Silberverbindungen zur Argyrosis der Haut kam. So beschreibt Habermann [23] einen Fall, bei dem das Silbersalvarsan zur Argyrosis führte. Bruns [24], Herrmann [25], Reuter [26] und Curschmann [27] beobachteten Silberablagerungen in der Haut nach innerlicher Anwendung des in Deutschland viel gebrauchten

[1] Knack: Dtsch. med. Wschr. **58**, 1672 (1932). — [2] Kugelmeier: Med. Klin. **32**, 1073 (1936). — [3] Randak: Zbl. Hautkrkh. **7**, 455 (1923). — [4] Kumer: Ebenda **21**, 260 (1927). — [5] Serefis: Derm. Wschr. **96**, 178 (1933). — [6] Matras: Zbl. Hautkrkh. **47**, 389 (1934). — [7] Lehner: Ebenda **49**, 577 (1935). — [8] Beuc: Ebenda **51**, 322 (1935). — [9] Gottron: Ebenda **59**, 7 (1938). — [10] Thrane: Verhandl. Dän. Oto-laryngol. Ges. Kopenh., S. 95 (1922); Hospitalstidende **65** (1922). — [11] Laubry u. Bordet: Bull. Soc. méd. Hôp. de Paris III s. **46**, 1133 (1922). — [12] Maranon: Ann. Derm. (Fr.) **4**, 35 (1923). — [13] Firth u. Harrison: Brit. J. Derm. **36**, 105 (1924). — [14] Caro Patón: Act. dermo-sifiliogr. **25**, 63 (1932). — [15] Barthélemy u. Danglemont: Bull. Soc. franç. Derm. **2**, 46 (1921); zitiert nach Zbl. Hautkrkh. **1**, 346 (1921). — [16] Davis: Arch. Derm. (Am.) **8**, 243 (1923); zit. nach Zbl. Hautkrkh. **10**, 173 (1924). — [17] Scheer: Arch. Derm. (Am.) **9**, 779 (1924); zit. nach Zbl. Hautkrkh. **14**, 344 (1924). — [18] Brockelmann: Arch. Derm. (Am.) **18**, 452 (1928); zit. nach Zbl. Hautkrkh. **29**, 452 (1929). — [19] Wollenberg: Arch. Derm. (Am.) **16**, 242 (1927); zit. nach Zbl. Hautkrkh. **25**, 695 (1928). — [20] Beinhauer: Arch. Derm. (Am.) **21**, 706 (1930); zit. nach Zbl. Hautkrkh. **35**, 257 (1931). — [21] Kaneko: Jap. J. Derm. a. Ur. **31**, 85 (1931); zit. nach Zbl. Hautkrkh. **39**, 323 (1932). — [22] Binkley: Arch. Derm. (Am.) **37**, 327 (1938); zit. nach Zbl. Hautkrkh. **59**, 295 (1938). — [23] Habermann: Derm. Z. **40**, 65 (1924). — [24] Bruns, Klin. Wschr. **11**, 1733 (1932). — [25] Herrmann: Zbl. Hautkrkh. **48**, 104 (1934). — [26] Reuter: Münch. med. Wschr. **81**, 355 (1934). — [27] Curschmann: Med. Klin. **33**, 1158 (1937).

Adsorgans, eines aus Chlorsilberkieselsäuregel und Silberkohle bestehenden Mittels der Fa. Heyden, vor dessen längerem Gebrauch deshalb gewarnt wurde [1, 2]. Zahlreicher sind die vorwiegend aus dem Ausland berichteten Fälle von Argyrosen der Haut nach Silberpräparaten, wie Argyrol [28–31, 32, 33], Kollargol [34–40], Silberprotein [41–43, 44, 45], Neosilvol [46–48] und anderen silberhaltigen Erzeugnissen [49–51, 52–54], auf deren Gefährlichkeit übrigens auch Knack [1] aufmerksam machte. Ein besonders ausgeprägter Fall von Argyrie hat offenbar bei einem Silberminenarbeiter vorgelegen, welcher als „blauer Mann" in Zirkusvorstellungen auftrat [55].

Aus der angeführten Literatur wird ersichtlich, daß die Silberverfärbung der Haut auch heute noch eine gewisse praktische Bedeutung besitzt. Ein besonderes Interesse besteht aber an dem Problem der Silberniederschläge in theoretischer Hinsicht. Die Argyrose ist seit langem Gegenstand der wissenschaftlichen Forschung, doch hat die umfangreiche Literatur nicht zur Beantwortung aller Fragen und zu einer einheitlichen Auffassung der Erscheinung geführt, vielmehr sind erhebliche Meinungsverschiedenheiten festzustellen. Diese beziehen sich hauptsächlich auf die Fragen nach der Bedeutung des Lichtes beim Zustandekommen der Hautverfärbung, nach der chemischen Natur des abgelagerten Silberpigments und nach der Lokalisation desselben in der Haut.

Ich habe versucht, diese Fragen mit Hilfe von Untersuchungen an der mit Silberlösungen durchströmten Haut anzugreifen. Natürlich ist es nicht ohne weiteres möglich, mit solchen kurzfristigen Durchströmungsversuchen die Verhältnisse nachzuahmen, die bei der sehr langsamen Ent-

---

[28] Willims: Arch. Derm. (Am.) **14**, 484 (1926). — [29] Madden: Ebenda **28**, 264 (1933). — [30] Zacks: Laryngoscope **43**, 680 (1933). — [31] Amitrano: Rinasc. med. **15**, 724 (1938). — [32] Chargin: Arch. Derm. (Am.) **11**, 400 (1925); zit. nach Zbl. Hautkrkh. **17**, 317 (1925). — [33] Freilich u. Dorne: Illinois med. J. **51**, 467 (1927); zit. nach Zbl. Hautkrkh. **25**, 99 (1928). — [34] Tobler: Schweiz. med. Wschr. **3**, 774 (1922). — [35] Albert: Zbl. Hautkrkh. **41**, 542 (1932). — [36] Gernez, Houcke u. Cuvelier: Ann. Méd. lég. etc. **12**, 251 (1932). — [37] Gernez: Rev. Tbc. (Fr.) III, s. **13**, 433 (1932). — [38] Langeron, Delattre u. Paget: C. r. Soc. Biol. Paris **114**, 132 (1933). — [39] Jaroszewicz: Zbl. Hautkrkh. **47**, 291 (1934). — [40] Sotgiu u. de Giorgio: Gi. ital. Derm. **72**, 813 (1937). — [41] Fox: Arch. Derm. (Am.) **22**, 584 (1930). — [42] Raaf u. Gray: J. amer. med. Assoc. **106**, 916 (1936). — [43] Fox: Arch. Derm. (Am.) **35**, 1193 (1937). — [44] Ormsby: Arch. Derm. (Am.) **37**, 692 (1938); zit. nach Zbl. Hautkrkh. **60**, 43 (1938). — [45] Bernstein: Arch. Derm. (Am.) **37**, 1089 (1938); zit. nach Zbl. Hautkrkh. **60**, 527 (1938). — [46] Royster: J. Pediatr. (Am.) **1**, 736 (1932); zit. nach Zbl. Hautkrkh. **44**, 325 (1933). — [47] Woodward: Amer. J. Dis. Childr. **45**, 1046 (1933); zit. nach Zbl. Hautkrkh. **45**, 731 (1933). — [48] Wise: Arch. Derm. (Amer.) **39**, 765 (1939); zit. nach Zbl. Hautkrkh. **63**, 132 (1940). — [49] Matras: Zbl. Hautkrkh. **32**, 181 (1930). — [50] Bezecny: Ebenda **57**, 90 (1938). — [51] Bošnjaković: Ebenda **60**, 195 (1938). — [52] Smith: Arch. Derm. (Am.) **16**, 68 (1927); zit. nach Zbl. Hautkrkh. **25**, 323 (1928). — [53] Becker u. Ritchie: J. amer. med. Assoc. **97**, 389 (1931); zit. nach Zbl. Hautkrkh. **39**, 727 (1932). — [54] Cayla: Bull. Soc. Pédiatr. Paris **33**, 31 (1935); zit. nach Zbl. Hautkrkh. **51**, 514 (1935). — [55] Gettler, Rhoads u. Weiss: Amer. J. Path. **3**, 631 (1927); zit. nach Zbl. Hautkrkh. **26**, 706 (1928).

stehung der Argyrose vorliegen. Immerhin ergeben sich einige Befunde, die zur Klärung der drei aufgeworfenen Fragen beitragen können. Insbesondere trifft das für die Wirkungen des Lichtes zu.

I. Über die Rolle des Lichtes bei der Entstehung von Silberverfärbungen der Haut.

In der Chemie ist die Fähigkeit des Lichtes, Silberverbindungen zu reduzieren, bekannt. Die Entwicklung der Photographie ist von dieser Grundlage ausgegangen und aus der gleichen Ursache schreibt das deutsche Arzneibuch Lichtschutz bei der Aufbewahrung der Silberpräparate vor. Schon aus diesem Verhalten der Silbersalze könnte man auf eine Beteiligung des Lichtes beim Zustandekommen der Argyrie schließen.

In der Tat messen auch verschiedene Autoren der Mitwirkung des Lichtes eine erhebliche Bedeutung bei (Laubry [11], Zacks [30], Albert [35], Fox [41], Kobert [56], Petri [57], Gaul [58], Stillians [59], Sáinz de Aja [60] und Koller-Aeby [61]). Ein gewisser Einfluß des Lichtes wird ferner von Knack [1], Maranon [12], Habermann [23], Kanitz [62], Myers [63], Steindorff [64], Kumer [65], Cascos [66] und Poulsson [67] anerkannt. Weniger deutlich sprechen sich aus: Kugelmeier [2], Thrane [10], Firth [13], Caro Patón [14], Curschmann [27], Willims [28], Madden [29], Gernez [36, 37], Koelsch [68] und Kwiatkowski [93]. Sie machen lediglich die Angabe, daß die unbedeckten Hautpartien stärker von der Verfärbung ergriffen waren als die von der Kleidung bedeckten.

Heubner [69] setzt sich in seiner ausführlichen Darstellung der Pharmakologie des Silbers mit dieser Frage im einzelnen nicht auseinander. Er erwähnt nur kurz, daß einige ältere Autoren die Wahrnehmung machten, die belichteten Partien der Haut hätten intensivere Färbung aufgewiesen als die bekleideten. Erst in einer neueren Arbeit über die Entstehung der lokalen Argyrie gibt er [70] der Meinung Ausdruck, daß irgendwann bei diesen Umsetzungen auch das Licht hineinspielen dürfte. Auch Polland [71] läßt die Lichtwirkung unberücksichtigt. Gräff [72] hält einen

[56] Kobert: Lehrb. d. Intoxikat. Bd. II, S. 343 (1906). — [57] Petri: In Henke-Lubarschs Handb. d. spez. path. Anat. u. Histol. Bd. X, Vergiftungen, S. 52 (1930). — [58] Gaul u. Staud: J. amer. med. Assoc. **104**, 1387 (1935). — [59] Stillians: Arch. Derm. (Am.) **35**, 67 (1937). — [60] Sáinz de Aja: Act. dermosifiliogr. **16**, 55 (1924). — [61] Koller-Aeby: Schweiz. med. Wschr. **3**, 983 (1922). — [62] Kanitz: Arch. Derm. (D.) **94**, 49 (1909). — [63] Myers: Amer. J. Syphilis **7**, 125 (1923). — [64] Steindorff: Klin. Mbl. Augenhk. **78**, 51 (1927). — [65] Kumer: In Arzt-Zieler: Die Haut- u. Geschlechtskrankh. Bd. II, S. 112 (1935). — [66] Cascos: Ann. Derm. (Fr.) **7**, 751 (1936). — [67] Poulsson-Liljestrand: Lehrb. d. Pharm. 12. Aufl., S. 503 (1940). — [68] Koelsch: Münch. med. Wschr. **1**, 304 (1912). — [69] Heubner: In Heffters Handb. exper. Pharm. Bd. III, 3, S. 2065 (1934). — [70] Heubner: Kolloid-Z. **89**, 110 (1939). — [71] Polland: In Handb. Haut- u. Geschlechtskrkh. Bd. IV, 3, S. 510 (1932). — [72] Gräff: Dtsch. med. Wschr. **58**, 556 (1932).

Einfluß des Lichtes für unbewiesen. Timm [73] und Zoon [74] bezeichnen die Beteiligung des Lichtes am Zustandekommen der Argyria cutis ausdrücklich als unwahrscheinlich.

Es erschien wünschenswert, durch Versuche der Beantwortung dieser Frage näherzukommen. Ein Versuch, am lebenden Tier eine Argyrie in kurzem Zeitraum zur Ausbildung zu bringen, versprach wenig Aussicht auf Erfolg, da übereinstimmend angegeben wird, daß Versuche in dieser Richtung an Tieren wenig befriedigend ausgefallen sind (Habermann [23], Tobler [34], Kobert [56], Koller-Aeby [61], Kumer [65], Heubner [69], Timm [73]). Geeigneter als Versuchsobjekt schien die Haut des isolierten und durchströmten Kaninchen- oder Schweineohres zu sein. Wels [75] konnte an der abgelösten Haut des Schweineohres zeigen, daß deren Reduktionswirkung gegenüber Natriumtellurit durch Belichtung stark beschleunigt wird. Ortmann [76] stellte im hiesigen Institut am isolierten und durchströmten Schweineohr das durch Belichtung verstärkte Reduktionsvermögen der Haut gegenüber Natriumtellurit, Dehydroindigo und Nitroanthrachinon fest. Versuche, die Reduktion von Silberverbindungen zu erweisen, mißlangen Ortmann [76], weil das von ihm benutzte Silbernitrat eine Undurchgängigkeit der Gefäße hervorrief.

Ebensowenig eignen sich für die Durchströmung Argentamin und Argolaval, die ich neben dem Silbernitrat in meinen ersten orientierenden Versuchen benutzte. Sie riefen in Ringer-Lösung weiße Niederschläge hervor. Novargan, Protargol und Albargin flocken zwar weniger aus, führen aber auch zu einer Hemmung des Durchflusses. Letzteres gilt auch für die klarbleibenden Kollargol- und Hegononlösungen. Als besonders geeignet erwiesen sich dagegen zwei komplexe Silbersalze, die den Vorteil besitzen, weder mit Eiweiß noch mit Chlorionen eine Fällung zu geben, das Silbernatriumthiosulfat und das Silbernatriumcyanid.

Die Lösungen dieser komplexen Verbindungen wurden zu den Versuchen stets frisch angesetzt. Zur Bildung des Silbernatriumthiosulfats wurde Silbernitrat in Wasser gelöst, mit Ringerscher Lösung als Chlorid gefällt und durch Zugabe von Natriumthiosulfat in das lösliche Komplexsalz umgewandelt. Um dieses beständig zu erhalten und zur Durchströmung brauchbar zu machen, muß Natriumthiosulfat im Überschuß vorhanden sein. – Die Silbernatriumcyanidlösung bereitete ich durch gleichzeitiges Lösen von Natriumcyanid und Silbercyanid in warmer Ringer-Lösung. Um freies Natriumcyanid möglichst auszuschalten, wurde darauf geachtet, daß überschüssiges, ungelöstes Silbercyanid vorhanden war, von welchem zum Schluß abfiltriert wurde. Der Gehalt der Lösungen an Silber ist im folgenden durch die Ausgangskonzentration an Silbernitrat bzw. Silbercyanid ausgedrückt.

Nach vorangegangenen Untersuchungen unseres Instituts [75, 76, 85, 86, 87], auf welche später noch ausführlich einzugehen sein wird, mußte von vorn-

[73] Timm: Zellmikrochemie der Schwermetallgifte. Habilit.-Schrift, S. 20. Leipzig 1932. — [74] Zoon: Derm. Z. **70**, 125 (1935). — [75] Wels: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 265 (1938). [76] Ortmann: Ebenda **191**, 12 (1939).

herein angenommen werden, daß bei der Zersetzung der Silbersalze in der Haut drei Hauptvorgänge beteiligt sind: 1. Die Wirkung des Lichtes allein, 2. die Wirkung reduzierender Hautbestandteile, unter denen Sulfhydrilverbindungen die wirksamsten sind. 3. eine Kombination dieser beiden Wirkungen.

Vorversuche.

Um einen Anhaltspunkt über den Anteil dieser drei Faktoren an der Zerlegung von Silberverbindungen zu gewinnen, wurden in Vorversuchen reine Silberlösungen und ebensolche, die gleichzeitig Cystein als Sulfhydrilkörper enthielten, in rotierenden Quarzgläsern bei Wasserkühlung in der von Wels[77] beschriebenen Apparatur bestrahlt, während die entsprechenden Kontrollproben unter sonst gleichen Bedingungen im Dunkeln verwahrt blieben. Die entstehenden Veränderungen waren zwar prinzipiell bei allen geprüften Silberverbindungen die gleichen, indem sie stets zuerst und am deutlichsten bei den bestrahlten und zugleich cysteinhaltigen Lösungen in Erscheinung traten, doch zeigten sich je nach der chemischen Eigenart des gewählten Silbersalzes gewisse Besonderheiten: Bei einer 0,5% Höllenstein enthaltenden ammoniakalischen Silberlösung, der 1‰ Cystein zugesetzt war, bildete sich nach dreistündiger Bestrahlung unter der Quarzlampe an der Wand des Reagensglases ein prachtvoller Spiegel von metallischem Silber aus, während in der cysteinfreien, bestrahlten Lösung nur ein brauner Anflug bemerkt wurde. Die unbestrahlte Cystein-Silberlösung zeigte nur eine gelbliche Färbung und die unbestrahlte, cysteinfreie Silberlösung war unverändert. — Silbernatriumthiosulfatlösung mit einem Gehalt von 0,1% Silbernitrat färbte sich, wenn sie gleichzeitig 0,2‰ Cystein enthielt, bereits nach einer Bestrahlungszeit von 5 Minuten stark schwarzbraun. Ohne Cysteinzusatz bewirkte die Bestrahlung anfangs nur einen schwärzlichen Anflug. Wurde die Bestrahlung aber länger fortgesetzt, so schwärzte sich auch die reine Silberlösung mehr und mehr, so daß der beschriebene Unterschied zwischen bestrahlter cysteinhaltiger und bestrahlter cysteinfreier Silberlösung schließlich ganz verschwand. Die beiden unbestrahlten Kontrollen blieben lange Zeit gleich klar und durchsichtig. Nach einigen Stunden nahm aber auch die unbestrahlte, mit Cystein versetzte Probe eine bräunliche Farbe an. Nur die cysteinfreie unbestrahlte Lösung blieb über lange Zeit völlig klar. — Wenn eine 0,125% Silbercyanid als Doppelsalz enthaltende Lösung für sich und unter Zusatz von 0,2‰ Cystein einer zweistündigen Belichtung ausgesetzt wurde, zeigte allein die cysteinhaltige Lösung Braunfärbung oder einen braunen Niederschlag, während die cysteinfreie, bestrahlte Lösung und die beiden unbestrahlten Kontrollproben farblos blieben.

Die Verschiedenheiten im Verhalten der drei untersuchten Silberverbindungen dürften, abgesehen von der unterschiedlichen Reaktionsgeschwindigkeit und der Menge der Niederschläge, auch darauf beruhen, daß die chemische Natur der abgesetzten Niederschläge wohl nicht bei allen die gleiche ist. Während angenommen werden kann, daß die Dunkelfärbung der ammoniakalischen Silberlösung und der Silbernatriumcyanidlösung auf der Abscheidung von metallischem Silber beruht — der beobachtete Silberspiegel in der ammoniakalischen Lösung kann dafür als Beweis dienen —, ist dies bei der Silbernatriumthiosulfatlösung wahrscheinlich nur zum Teil der Fall. Genauere Prüfungen wurden nicht durchgeführt, sondern nur das Auflösungsvermögen der dunklen Niederschläge aus der Silbernatriumthiosulfatlösung in Kaliumferricyanid- und Natriumthiosulfatlösung festgestellt. Da die Niederschläge bei dieser Behandlung innerhalb begrenzter Zeit nur teilweise

[77] Wels: Pflügers Arch. **223**, 395 (1930).

gelöst wurden, kann man wohl annehmen, daß sie keineswegs nur aus metallischem Silber bestanden, sondern wohl auch unlösliches Silbersulfid enthielten, welches aus Silberthiosulfat bekanntlich leicht entsteht. Diese Beobachtung, die nur für das schwefelhaltige Silbernatriumthiosulfat gilt, sei hier angeführt, es sei jedoch sogleich hervorgehoben, daß hieraus kein unmittelbarer Schluß auf die Vorgänge in der belichteten lebenden Haut gezogen werden kann.

Insgesamt ergibt sich also wieder die bekannte Tatsache, daß schon das Licht allein eine Reduktion der gelösten Silberverbindungen hervorruft. Andererseits aber zeigt sich, daß die Gegenwart von Sulfhydrilkörpern diesen Vorgang wesentlich beeinflußt: Die Anwesenheit der Sulfhydrilgruppe genügt allein schon zu allmählichen Zersetzung von Silberverbindungen und das Licht fördert diesen Vorgang offenbar stark in ganz analoger Weise, wie es die Reduktion anderer Verbindungen durch die SH-Gruppe beschleunigt (Dehydroindigo, Nitroanthrachinon, Natriumtellurit). Eine besondere Stellung nimmt das komplexe Silbernatriumcyanid ein, aus dessen ziemlich unangreifbarem Komplex überhaupt nur im Zusammenwirken von Strahlung und Sulfhydril Silber freigemacht werden kann.

Hauptversuche.

Bei den Lichtwirkungen, die sich in der Haut abspielen, darf deshalb deren Sulfhydrilgehalt auch bei den Silberverbindungen nicht vernachlässigt werden. Das zeigte sich in deutlicher Weise bei den Durchströmungsversuchen.

Methodisches: Die weißen Kaninchenohren wurden nach Krawkow-Pissemski[78], die Schweineohren nach der von Ortmann[76] ausgearbeiteten Methode durchströmt. Ich benutzte mit Sauerstoff gesättigte Ringer-Lösung von durchschnittlich 30 -32° Temperatur, die aus einer etwa 60 cm über dem Ohr befindlichen Flasche einfloß. Jedes Ohr wurde anfangs mit reiner Ringer-Lösung durchgespült, ehe auf die das Silber enthaltende Ringer-Lösung umgeschaltet wurde. Die Belichtung erfolgte mit einer Quecksilberdampflampe aus etwa 35 cm Abstand. Zwecks unmittelbaren Vergleichs mit der unbestrahlten Haut wurde nur ein umgrenztes Stück der Ohrhaut durch eine Schablonenöffnung bestrahlt, während die übrige Haut von der Schablone abgedeckt war. Die Bestrahlungszeit betrug durchschnittlich etwa 2—3 Stunden. Der Wärmeentwicklung wurde durch Ventilatorkühlung des Ohres entgegengewirkt.

Bei den Durchströmungen der Ohren mit Silbernatriumthiosulfatlösung zeigte sich tatsächlich, daß — analog dem unbelichteten Cysteinversuch — schon die unbelichtete, abgedeckte Haut nach einiger Zeit einen hellgrauen bis hellbraunen Farbton annahm, der allerdings ziemlich schwach ausfiel. An den vom Quarzlampenlicht getroffenen Stellen (sternförmige Schablonenöffnung) aber war die Anfärbung der Haut auf das Vielfache verstärkt, so daß sich der bestrahlte Bezirk nach dem Abbruch der Bestrahlung und Fortnahme der Schablone scharf abzeichnete (Abb. 1).

[78] Krawkow-Pissemski: Zit. b. Schlossmann in Abderh. Handb. d. biol. Arbeitsmeth. Abt. IV, Teil 7 B, S. 1756 (1935).

Bei längerem Liegenlassen der Ohren im Tageslicht dunkelten dann auch die unbestrahlten Hautstellen deutlich nach, doch erreichte die Verfärbung niemals den Grad wie im ultraviolettbestrahlten, sternförmigen Bezirk.

Weitere Versuche, die mit Transargan, einem käuflichen Silbernatriumthiosulfat, vorgenommen wurden, wobei zur Gewährleistung einer ungehemmten Durchströmung überschüssiges Natriumthiosulfat zugesetzt werden mußte, zeigten keine Abweichungen von den beschriebenen. Bei ammoniakalischer Silberlösung und Albargin machten sich Störungen in der Durchströmung bemerkbar. Obwohl daher nicht so eindeutige Bilder zustande kamen wie mit Silbernatriumthiosulfat, lassen die wenigen damit angestellten Versuche den Schluß zu, daß auch diese Verbindungen bei Bestrahlung Hautfärbungen hervorrufen können.

Abb. 1. Schweineohr, mit Silbernatriumthiosulfat-Ringer-Lösung durchströmt. Abdeckung des Ohres durch eine Schablone mit sternförmiger Öffnung. Bestrahlungszeit 2 Stunden. An bestrahlter Stelle tief schwarzbraune Verfärbung, unbestrahlte Haut fast unverändert weiß.

Es muß noch Erwähnung finden, daß bereits durch bloße Bestrahlung der Haut mit Quarzlicht eine Pigmentation hervorgerufen wird. In zehn Versuchen mit einer Bestrahlungszeit von $1^1/_2$—8 Stunden zeigte sich im bestrahlten Bezirk, allerdings meist erst nach längerem Liegenlassen, eine geringe Pigmentation. Unmittelbar nach Beendigung der Bestrahlung war meist nur eine leichte Hautrötung wahrnehmbar. Der Farbton dieses Pigments war aber niemals braun oder schwarz wie beim Silber, sondern hell-rötlichbraun. Diese letzteren Befunde bestätigen die alten Beobachtungen von Meirowsky [79] und Lignac [80] und die neuen Untersuchungen von Miescher [81] an der vom Körper losgelösten, bestrahlten Haut.

Zusätzliche Versuche dienten der Ermittelung, in welcher Weise die Silberverfärbung von der Wellenlänge des Lichtes abhängig ist. Ortmann [82] hatte gefunden, daß Natriumtellurit, Dehydroindigo und Nitroanthrachinon durch die kurzwelligen Ultraviolettstrahlen am stärksten verändert werden, daß aber auch das langwellige Ultraviolett und der anschließende Teil des sichtbaren Lichtes wirksam sind.

[79] Meirowsky: Frankf. Z. Path. **2**, 438 (1909). — [80] Lignac: Virchows Arch. **240**, 383 (1922). — [81] Miescher u. Minder: Strahlentherapie **66**, 6 (1939). — [82] Ortmann: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **192**, 96 (1939).

Wie Ortmann[82] benutzte ich die von Schott, Jena, hergestellten Filter BG 19 und GG 13*, die rechts und links von einem Quarzglas angebracht wurden. Die Bestrahlung der Haut erfolgte durch das Quarzglas und die daneben liegenden Filter hindurch, während die übrige Ohrhaut vor Licht geschützt blieb. Unter dem Filter GG 13 wurde die Haut fast nur von sichtbarem Licht, unter dem Filter BG 19 von sichtbarem Licht und dem langwelligen Ultraviolett bis etwa zur Wellenlänge 300 mμ, unter dem Quarzglas vom gesamten Spektrum der Lichtquelle einschließlich des kurzwelligen ultravioletten Anteils getroffen. Als Lichtquelle diente teils eine Quecksilberdampflampe, teils, wegen des kontinuierlicheren Spektrums, eine Kohlenbogenlampe. — Durchströmt wurde mit Silbernatriumthiosulfat oder Transargan.

Es ergab sich in Analogie zu den Befunden Ortmanns[82], daß die stärkste Silberverfärbung durch das gesamte Licht, eine etwas schwächere durch sichtbares Licht einschließlich des langwelligen Ultravioletts, die schwächste durch das sichtbare Licht allein bewirkt wurde. Doch war auch die Wirkung des letzteren noch deutlich ausgeprägt.

Die Versuche mit dem anderen komplexen Silbersalz, dem Silbernatriumcyanid, beanspruchten im Hinblick auf die Rolle der SH-Gruppen bei den Hautverfärbungen besonderes Interesse, weil diese Verbindung als unempfindlich gegenüber gewöhnlichem Licht und als ziemlich beständig gegen eine Beeinflussung durch Haut, Gewebe und andere organische Stoffe angesehen werden muß. Das hatte sich bereits aus den oben beschriebenen Reagensglasversuchen ergeben und wurde durch die nunmehr zu erörternden Versuche an durchströmten Kaninchen- und Schweineohren bestätigt.

In den Versuchen dieser Art wurde eine braungelbe bis braune Silberpigmentierung der bestrahlten Hautpartie erzielt, die sich scharf von der unbestrahlten, weiß gebliebenen Haut abhob. Eine nachträgliche Dunkelfärbung trat an letzterer im Gegensatz zum Silbernatriumthiosulfat auch beim längeren Liegen nicht auf. Das legte die Vermutung nahe, daß zur Zerlegung dieses beständigen Komplexsalzes kurzwellige Strahlung und Reduktionskraft der Haut zusammenwirken müssen. Die Richtigkeit dieser Vermutung wurde durch Bestrahlungsversuche erwiesen, bei denen das Quarzlampenlicht die erwähnten Filter passieren mußte. Der braungelbe Silberniederschlag trat nur an der Hautstelle auf, an welcher das ungefilterte Licht zur Einwirkung gelangte. Sichtbares Licht und langwelliges Ultraviolett genügten nicht, um eine erkennbare Verfärbung zu erzeugen.

Einige mit den Patentpräparaten Necaron und Acykal vorgenommene Versuche hatten den gleichen Verlauf. Es sei noch bemerkt, daß bei den mit Silbernatriumcyanid durchgeführten Versuchen Verhältnisse obwalteten, die vom Physiologischen stark abwichen; denn bei längerer Durchströmung trat ein rasch zunehmendes Ödem des Ohres ein.

* Siehe Nachtrag 5990 zur Liste 4777 der „Jenaer Farb- und Lichtfiltergläser" von Schott und Gen., Jena.

Besprechung der Lichtversuche.

Nach Abschluß von etwa 60 Versuchen konnte die eingangs gestellte Frage nach der Beteiligung des Lichtes am Zustandekommen der Silberpigmentation der Haut im bejahenden Sinne beantwortet werden.

Wenn auch, wie weiter unten noch ausgeführt werden soll, bei der menschlichen Hautargyrie, insbesondere in bezug auf die Lokalisation und vielleicht auch in bezug auf die chemische Natur des Silberpigments, andere Verhältnisse vorliegen als in den beschriebenen Versuchen, so daß eine Auswertung der erhobenen Befunde für die Argyrie nur mit Vorsicht vorgenommen werden darf, so gibt doch die hier festgestellte starke Wirkung des Lichtes einen sehr deutlichen Hinweis darauf, daß das Licht bei der menschlichen Hautargyrie kein gleichgültiger Faktor sein kann. Dafür sprechen ja auch die Beobachtungen der bereits erwähnten Autoren [1, 2, 10–14, 23, 27–30, 35–37, 41, 56–68, 93]. Besonders eindrucksvolle Beispiele sind die Fälle von Laubry [11] und Zacks [30]. Beim ersteren handelt es sich um Argyrosis bei einem Gärtner, der Ulcerationen des Mundes dauernd mit Höllenstein geätzt hatte. Bei ihm erstreckte sich die Verfärbung über Gesicht, Hals und Nacken bis zur Gürtelgegend des Stammes. Diese Lokalisation wurde darauf zurückgeführt, daß er in seinem Berufe, den Oberkörper nur mit einem Hemd bekleidet, viel im Freien tätig war. Im anderen Falle entwickelte sich bei einem Kinde, welches sechs Jahre lang wegen eines chronischen Nasenleidens regelmäßig Argyrollösung benutzt hatte, die Argyrie plötzlich infolge von Höhensonnenbestrahlung.

Bei den Wirkungen des Lichtes müssen zwei Dinge auseinandergehalten werden: 1. Die Reduktionswirkung, welche das Licht selbst, ohne Gegenwart reduzierender Substanz, ausübt; 2. die Beschleunigung, welche das Licht der Wirkung reduzierender Stoffe erteilt. Wirken also Licht und reduzierende Stoffe zusammen, so ist die Art des Zusammenwirkens nicht eindeutig durch den letzteren Modus definiert, vielmehr tritt zu der photokatalytischen Wirkung die Eigenreduktionswirkung des Lichtes hinzu, und es ist im einzelnen noch nicht zu übersehen, welchen Anteil diese Eigenreduktionswirkung an dem Gesamtergebnis hat. Immerhin geben schon die Reagensglasversuche einen vorläufigen Anhalt für die Annahme, daß bei den Reduktionen in der lebenden Haut dem photokatalytischen Vorgang die größere Bedeutung zukommt; denn die Reduktionseffekte beim Zusammenwirken von Cystein und Strahlung sind so groß, daß sie durch eine einfache Summation der Einzelreduktionswirkungen auch nicht annähernd erklärt werden können. Damit stimmt auch der Eindruck überein, den man von der Lichtwirkung in der durchströmten Haut erhält. Die an sich schon vorhandene Reduktionswirkung der Haut erfährt durch die Belichtung eine so gewaltige Steigerung (siehe Abb. 1), daß diese nicht darauf beruhen kann, daß sich die Eigenreduktionswirkung des Lichtes zu derjenigen der Haut einfach addiert.

In den bisherigen Erörterungen ist als reduzierender Faktor in der Haut hauptsächlich die Sulfhydrilgruppe ins Auge gefaßt worden. Diese ist, wie insbesondere die Arbeiten von Walker[83] und Kaye[84] gezeigt haben, in der Keimschicht der Haut reichlich vertreten. Sie ist ferner unter den biologischen Wasserstoffdonatoren der wirksamste, was sich auch in den vorangehenden Arbeiten unseres Instituts[75, 76, 85–87] zeigte. Natürlich aber entfällt ein Anteil der Reduktionswirkung, welche die Haut ausübt, auch auf ihre anderen reduzierenden Körper, insbesondere auf das Vitamin C. Ferner üben auch das Pigment und seine Vorstufen eine Reduktionswirkung aus, die gerade beim Silber nicht außer acht gelassen werden darf, da ja die Silberreduktionsmethode zur Darstellung des Pigmentes benutzt wird. Wahrscheinlich werden auch noch andere Redoxsysteme an der Reduktionswirkung der Haut beteiligt sein; denn bei der großen Empfindlichkeit der Silberverbindungen gegen Reduktionswirkungen werden diese bei der Berührung mit den verschiedensten Substraten ausgelöst, die der Chemiker gemeinhin als „organische Substanz" zu bezeichnen pflegt.

II. Über die chemische Natur der Silberniederschläge.

Ich habe versucht, festzustellen, in welcher Zustandsform das Silber bei den Ohrenversuchen in der Haut zur Ablagerung gekommen war. Das erschien mir wichtig, auch in bezug auf die menschliche Argyrose; denn wenn bei dieser auch die endgültige Form der Silberablagerungen eine andere sein kann als bei den Ohrversuchen, so ist doch wahrscheinlich, daß der Primärvorgang bei der Bildung der Niederschläge der gleiche ist.

Über die Form, in der das Silber in der menschlichen Haut deponiert wird, konnte eine Einigung bisher nicht erzielt werden. Die Mehrzahl der Autoren läßt die Natur der Niederschläge überhaupt unerörtert. Kugelmeier[2], Kobert[56] und Kanitz[62] vertreten die Ansicht, daß es sich vorwiegend um organisch gebundenes Silber handelt, während Kumer[65] angibt, daß eine sichere Entscheidung, ob metallisches Silber oder Silberalbuminat vorliegt, noch nicht getroffen sei. Curschmann[27], Petri[57] und Poulsson[67] nehmen als Grundlage der Hautverfärbung elementares Silber an, ebenso Myers[63] und Ambrogio[88], die aber an eine Vergesellschaftung mit Silberchlorid oder Silbereiweiß denken.

Heubner[69], Timm[73], v. Neergaard[89] und Martini[90] betrachten die Ablagerungen bei der Argyrosis als Schwefelsilber. Besonders Heub-

---

[83] Walker: Biochem. J. **19**, 1085 (1925). — [84] Kaye: Ebenda **18**, 1289 (1924). — [85] Wels: Strahlentherapie **58**, 1 (1937). [86] Wels: Ebenda **66**, 677 (1939). — [87] Wels: Klin. Wschr. **18**, 589 (1939). [88] Ambrogio: Arch. internat. Pharmacodynam. **45**, 167 (1933). — [89] v. Neergaard: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **110**, 103 (1925). — [90] Martini: Verh. dtsch. Ges. inn. Med. **45**, 280 (1933).

ner [70, 91, 92] vertritt die Ansicht, daß als Silberpigment nur das Schwefelsilber in Frage komme *.

Die in meinen Versuchen gewonnene Erkenntnis, daß die erhebliche Verstärkung der Silberverfärbung an den belichteten Stellen auf einem durch das Licht katalysierten Reduktionsvorgang beruht, führt zu der Annahme, daß die Ablagerung des Silbers primär in der Form von Metallkörnchen erfolgt; denn wenn bei einer Silberverbindung als Folge eines Reduktionsvorganges ein schwarzer Niederschlag sichtbar wird, so ist schon von vornherein wahrscheinlich, daß es sich um metallisches Silber handelt. Da dieses aber sich sekundär mit den Schwefelverbindungen der Haut zu Silbersulfid umsetzen kann, und da außerdem komplizierend hinzutritt, daß die von mir hauptsächlich benutzte Silberverbindung, das Silbernatriumthiosulfat, selbst Schwefel enthält, so mußten die Reaktionen zur Unterscheidung von Silber und Silbersulfid zunächst auf ihre Brauchbarkeit geprüft werden. In Frage kam die Behandlung des Silberpigments mit Kaliumferricyanid und Natriumthiosulfat, mit Kupferchlorid und mit Sublimat.

Ich verwandte in ähnlicher Weise wie Timm [73] photographische Gaslicht-Papierstückchen (Chlorbromsilberpapier), von denen ich einige belichtete, entwickelte und fixierte, andere mit Schwefelammonium schwärzte. Die eine Hälfte der schwarzen Papierstückchen enthielt also metallisches Silber in fein verteiltem Zustand, die andere Hälfte fein verteiltes Schwefelsilber. Sie wurden in die oben genannten Lösungen eingelegt. In der Mischung von 2% Kaliumferricyanid- und 7,5% Natriumthiosulfatgehalt erfolgte die Auflösung des metallischen Silbers fast augenblicklich, Schwefelsilber wurde in Stunden noch nicht angegriffen. Erst in 1—2 Tagen war eine Farbänderung des Schwefelsilbers von Schwarz über Schwarzbraun zu Braun zu beobachten. Silber- und Schwefelsilberniederschläge, die aus 0,5%iger Silbernitratlösung durch Kochen mit Natriumformiat bzw. Versetzen mit Ammoniumsulfid gewonnen wurden, zeigten dasselbe Verhalten. Der Silberniederschlag ging in Lösung, das Schwefelsilber blieb unbeeinflußt. — In einer 1%igen Kupferchloridlösung wurde das metallische Silber unter Bildung von Silberchlorid und Kupferchlorür in wenigen Minuten entfärbt, Schwefelsilber war noch nach Tagen unverändert. — Eine 2,5%ige Quecksilberchloridlösung bewirkte beim metallischen Silber zuerst eine Graufärbung; nach etwa 5 Minuten war der Niederschlag rein weiß gefärbt. Schwefelsilber zeigte unter Sublimatwirkung noch nach Tagen eine unverändert schwarze Farbe. — Gegen 1%ige Natriumcyanidlösung, die von manchen Autoren zur Identifizierung des Silberpigmentes gebraucht wurde, verhielt sich Silber- und Silbersulfidpapier gleichartig, die Niederschläge gingen innerhalb von 2 Stunden in Lösung. Zwar erfolgte die Auflösung des Schwefelsilbers rascher als die des metallischen Silbers, doch war der Unterschied nicht deutlich genug, um eine sichere Unterscheidung von Silber und Silbersulfid zu ermöglichen. Zur Vornahme einer Unterscheidung von Silber und Silber-

[91] Heubner: Verh. dtsch. Ges. inn. Med. **45**, 254 (1933). — [92] Heubner: Med. Klin. **33**, 732 (1937).

* Herrn Prof. Dr. Heubner, der die Freundlichkeit hatte, die vorliegende Arbeit im Manuskript durchzusehen, danke ich für mehrere wertvolle Hinweise auf die zwischen experimenteller Silberverfärbung und menschlicher Argyrie bestehenden Unterschiede.

sulfid erwies sich Cyanid somit als nicht geeignet, was ja Heubner [69] auch schon ausdrücklich hervorgehoben hat.

In eingehenden Untersuchungen wurde nun die chemische Natur des in der Haut abgelagerten Silberpigments durch sein Verhalten gegen Kaliumferricyanid-Natriumthiosulfat, Kupferchlorid und Quecksilberchlorid ermittelt. Nach gründlichem Wässern wurden kleine Stückchen abgezogener, pigmentierter Schweinehaut und verfärbte Hautschnitte von etwa 50 μ und 5 μ Dicke mit diesen Reagentien behandelt. Das Ergebnis war folgendes:

1. Kaliumferricyanid-Natriumthiosulfat: Die verfärbten Hautstückchen entfärbten sich innerhalb von 1—2 Stunden vollständig. Aus den dicken Hautschnitten wurde das Silber auf Zugabe des Reagens fast augenblicklich herausgelöst. Ebenso zeigten die dünnen Schnitte nach kurzer Behandlung mit der Lösung im Hell- und Dunkelfeld * keine Silberpigmentkörnchen mehr.

2. Kupferchlorid: Die Hautstückchen verloren in etwa 2 Stunden ihr dunkles Pigment, färbten sich aber durch Aufnahme von Kupferlösung hellblau. Nach kurzem Einlegen in Thiosulfatlösung und nachfolgendem Wässern wurde die helle Farbe der Haut sichtbar. Bei der Behandlung von dicken Schnitten trat eine rasch zunehmende Aufhellung des braunschwarz gefärbten Gewebes ein, doch blieb ein graurötlicher Farbton bestehen, der von den Niederschlägen von Silber- und Cuprochlorid herrührte, die an Stelle der schwarzen Silberkörnchen gebildet worden waren. Diese Umsetzung ließ sich im Augenblick des Auftropfens unter dem Mikroskop einwandfrei verfolgen. An dünnen Schnitten ließen sich nach kurzer Kupferchlorideinwirkung im Hellfeld an Stelle der schwarzen Silberkörnchen hellere und ein wenig vergrößerte Granula erkennen. Die gelblich und rötlich leuchtenden Silberkörnchen des Dunkelfeldes hatten sich in etwas vergrößerte Teilchen von mehr weißem Glanze umgewandelt. Die Betrachtung der dünnen Hautschnitte im Auflichtmikroskop ** bot vor den gewöhnlichen Hell- und Dunkelfeldbildern keinen Vorteil.

Aus diesem Verhalten der durch Belichtung erzeugten Niederschläge gegen die Reagentien Ferricyanid-Thiosulfat und Kupferchlorid war mit hinreichender Sicherheit zu ersehen, daß sie aus metallischem Silber bestanden. Im Hinblick auf das aus dem schwefelhaltigen Silbernatriumthiosulfat abgeschiedene Pigment ist diese Feststellung besonders beachtenswert. Was die Brauchbarkeit von Ferricyankali-Thiosulfat für die Unterscheidung zwischen metallischem Silber und Schwefelsilber anbelangt, so wird sie von Heubner [69] allerdings angezweifelt. Er vertritt die Meinung, daß auch Schwefelsilber durch Ferricyanid und Thiosulfat zum Schwinden gebracht werden kann, bemerkt aber in einer späteren Arbeit [70], daß

* Kardioidkondensor, Zeiss-Druckschrift Mikro 407.
** Epikondensor W, Zeiss-Druckschrift Mikro 476.

dies erst nach langdauerndem Behandeln geschieht. Ich konnte mich überzeugen, daß die Auflösung des Schwefelsilbers durch Ferricyankali-Natriumthiosulfat so langsam vor sich geht, daß man fast von Unlöslichkeit des Schwefelsilbers sprechen kann. Im Gegensatz dazu wird metallisches Silber außerordentlich rasch aufgelöst. Man kann also das Reagens zur Unterscheidung des metallischen Silbers vom Schwefelsilber sehr wohl verwenden.

3. Quecksilberchlorid: Pigmentierte Hautstückchen wurden nach etwa 2 Stunden weiß gefärbt. In dicken Hautschnitten fand im durchfallenden Licht beim Auftropfen des Reagens eine Umwandlung der braunschwarzen Niederschläge in solche von grauschwarzer Farbe statt. Infolge der Verdichtung der Niederschläge — Bildung des voluminöseren Silberchlorids und Quecksilberchlorürs an Stelle des metallischen Silbers — wurden aber die Gewebsschichten nicht aufgehellt, sondern eher noch dunkler gefärbt. Es besteht darin eine Übereinstimmung mit dem bekannten Verstärkungsprozeß von Photoplatten. Bei der Betrachtung dicker Schnitte in der Aufsicht * erschien das pigmentierte Gewebe nach Sublimateinwirkung milchig weiß. Die in dünnen Schnitten liegenden Silberkörnchen zeigten im gewöhnlichen Hellfeld nach Sublimatbehandlung kaum Unterschiede gegenüber den unverstärkten Silberkörnchen. Nach längerer Einwirkung des Quecksilberchlorids hatten sie lediglich in ihrer Körnchengröße etwas zugenommen und waren in ihrer Farbe mehr grau geworden. Auch im Dunkelfeld war kein großer Unterschied zwischen unverstärkten und durch Quecksilber verstärkten Silberkörnchen zu sehen. Die mit Quecksilber verstärkten Teilchen erschienen wiederum nur etwas größer, leuchteten aber ebenso wie die Silberteilchen. Mit dem Auflichtgerät (Epikondensor *W*) war an dünnen Schnitten zwischen unbehandelten und verstärkten Silberteilchen im Hellfeld praktisch kein Unterschied wahrnehmbar. Im Auflicht-Dunkelfeld erschienen die mit Quecksilber verstärkten Körnchen vielleicht etwas vergrößert und verdichtet. Sie leuchteten ebenso wie die unbehandelten Silberteilchen. — Anschließend wurden dünne, mit Quecksilber behandelte Hautschnitte noch in verdünnten Salmiakgeist eingelegt, was eine Schwärzung des gebildeten Quecksilberchlorürs zur Folge hatte. Dabei blieben die ursprünglich vorhanden gewesenen Silberteilchen ziemlich unverändert oder zeigten höchstens eine geringe Verstärkung.

Der Ausfall der Sublimatreaktion spricht also ebenfalls für das Vorhandensein von metallischem Silber in der untersuchten Haut. Gleichwohl erscheint die Quecksilberchloridreaktion zur Identifizierung von metallischem Silber im Gewebe bei weitem nicht so empfehlenswert, wie die beiden anderen angewandten Reaktionen. Ich befinde mich mit dieser Feststellung im Gegensatz zu Timm[73] und Heubner[69], welche die Sublimatprobe

* Epi-Lampe 8, Zeiss-Druckschrift Mikro 476.

als besonders zuverlässig ansprechen. Sie vertreten die Auffassung, daß schwarze Körnchen von metallischem Silber, da aus ihnen durch Quecksilberchlorid weißes Silberchlorid und weißes Mercurochlorid entsteht, im durchfallenden Licht durchsichtig werden und auffallendes Licht weiß reflektieren müßten. Da von Timm [73] eine solche Veränderung an 5 μ dünnen Schnitten einer untersuchten Argyroseniere nicht bemerkt wurde, folgerte er, daß es sich bei dem Silberpigment um Silbersulfid handelte und daß ganz allgemein das Pigment der Argyrose Schwefelsilber sei, für dessen Entstehung in der Haut er den Einfluß des Schwefelwasserstoffs verantwortlich machte. Diesen Schlüssen steht das Ergebnis meiner Beobachtungen entgegen. Diese zeigen, daß die Veränderungen der Silberkörnchen in dünnen Schnitten unter der Sublimatbehandlung so wenig charakteristisch sind, daß sie überhaupt kaum in Erscheinung treten. Ebensowenig sind in dünnen Schnitten unbehandelte Silberkörnchen von mit Quecksilber behandelten etwa mit dem Auflichtgerät auf Grund von Reflexionserscheinungen zu unterscheiden. Viel deutlichere Veränderungen erhält man, wenn man die Sublimatreaktion an Hautstücken oder dicken Hautschnitten ausführt. Natürlich kann es ja an letzteren aus bereits erörterten Gründen (s. S. 358) im durchfallenden Lichte nicht etwa zur Durchsichtigkeit der Niederschläge kommen. Diese Ansicht von Timm [73] und Heubner [69], daß die Niederschläge durchsichtig werden müssen, wenn an Stelle der Silberkörnchen weiße Salzkristalle entstehen, vermag ich nicht zu teilen. Dagegen konnte mit dem Auflichtgerät die für metallisches Silber sprechende Weißfärbung genau wie mit bloßem Auge am Hautstück festgestellt werden. Man kann übrigens die geschilderten Vorgänge an einer verstärkten Photoplatte verfolgen und sich überzeugen, daß die von Timm [73] und Heubner [69] gemachten Voraussetzungen nicht zutreffend sein können. Auch hier werden die mit Sublimat behandelten Silberkörnchen wohl weiß, aber deshalb noch nicht durchsichtig. Wie weit bei der Behandlung des Gewebes mit Sublimat sich außerdem Eiweißfällungen störend bemerkbar machen, ist schwer zu übersehen. Schon normale Haut nimmt ja in Quecksilberchloridlösung infolge Eiweißfällung eine weißere Farbe an.

Die von Timm [73] ausgeführten Untersuchungen berechtigen also wohl kaum zu den Schlüssen, die er aus ihnen gezogen hat. Der von Timm [73] erhaltene Ausfall der Kaliumferricyanid-Thiosulfatreaktion und der Sublimatprobe zwingt keineswegs zu dem Schluß, daß Silbersulfid vorliegt, vielmehr kann ebensogut auch auf metallisches Silber geschlossen werden. Als Grundlage der Ablagerungen in der mit Silberlösung durchströmten Haut, an denen nach meinen Versuchen die reduktionsbeschleunigende Wirkung des Lichtes stark beteiligt ist, kann, wie schon hervorgehoben und durch die chemische Untersuchung erwiesen wurde, als primäres Produkt nur metallisches Silber in Frage kommen. Zieht man die Lichtwirkung auch bei der Argyrose als einen wesentlichen Faktor in Betracht,

so wird man, da sie auf einem Reduktionsvorgang beruht, auch hier auf die Wahrscheinlichkeit hingewiesen, daß zunächst metallisches Silber entsteht. Das Schwefelsilber läßt sich in einen Reduktionsvorgang nicht einordnen. Daß aus dem metallischen Silber durch eine sekundäre Umwandlung im Laufe der Zeit aber Silbersulfid entstehen kann, ist bei der bekannten Affinität des Silbers zum Schwefel und bei dem Schwefelreichtum der Haut durchaus möglich. Das beweisen auch die Versuche von Heubner [70], der Stückchen von metallischem Silber in die Haut einbrachte und ihren Übergang in Silbersulfid über verschiedene Zwischenstufen verfolgte. Das Silber verhält sich in dieser Hinsicht anders als das Gold, welches infolge seiner viel größeren Reaktionsträgheit auch über sehr lange Zeiten hin als reines Metall im Gewebe verbleibt. Wesentlich ist aber nun die Frage, in welchem Ausmaß die Verbindung des ursprünglich metallischen Silbers mit dem Schwefel bei der durch langdauernde Silbermedikation entstehenden Argyrose tatsächlich vor sich geht. Ein zwingender Beweis, daß bei der Argyrosis cutis vorwiegend Schwefelsilber vorliegt, ist bisher eben nicht erbracht worden. Die Ergebnisse der wenigen Versuche, die an menschlicher Argyrosehaut mit chemischen Reagentien durchgeführt worden sind, werden vielmehr durch die Annahme metallischen Silbers besser erklärt als durch die Annahme von Schwefelsilber. So konnte Firth [13] in Schnitten aus der Brusthaut eines Argyriefalles die Silberniederschläge mit Ferricyankali-Natriumthiosulfat ausbleichen und mit Sublimat-Ammoniak verstärken. Besonders lassen aber die Veröffentlichungen von Stillians [59, 94–97] auf Silber in Metallform schließen. Stillians verwandte die Kaliumferricyanid-Natriumthiosulfatmischung in Form intracutaner Einspritzungen zur Therapie der Argyrosis cutis. Es gelang ihm, durch serienweise Injektionen die Argyrie zur Aufhellung, ja zum Verschwinden zu bringen. Die Erklärung dieses Erfolges macht keine Schwierigkeiten, wenn das färbende Agens durch die zugeführten Stoffe rasch aufgelöst wird, wie es bei metallischem Silber der Fall ist. Das Schwefelsilber braucht, wie gezeigt wurde, zu seiner Auflösung durch die genannten Reagentien so sehr viel mehr Zeit, daß man sich fragen muß, ob die Verweildauer der eingespritzten Lösungen in der lebenden Haut hierfür ausreichen kann. Die Methode von Stillians bewährte sich auch bei den Versuchen des Italieners Sotgiu [40] und vor allem des Japaners Shimizu [98]. Letzterer gibt dann auch den Prozeß der Auflösung des Argyriepigments in der Haut durch Kaliumferricyanid-Thiosulfat in chemischen Formeln unter Zugrundelegung der Annahme metallischen Silbers wieder, ohne die Möglichkeit, daß Silbersulfid vorliegen könne, überhaupt zu diskutieren. — Natürlich bezieht sich alles hier zuletzt Gesagte lediglich

[93] Kwiatkowski u. Jalowy: Deliberat. Congr. Dermat. internat. **9** (1935); **2**, 517 (1936). — [94] Stillians u. Lawless: Arch. Derm. (Am.) **17**, 153 (1928). — [95] Stillians: Ebenda **18**, 785 (1928). — [96] Stillians u. Lawless: J. amer. med. Assoc. **92**, 20 (1929).

auf die Pigmentierung der Haut. Über Niederschläge in den inneren Organen kann nach meinen Versuchen zunächst nichts ausgesagt werden.

Es soll noch erwähnt werden, daß in den obersten Hautschichten zuweilen nach der Behandlung mit den Reagentien eine Spur hellbraunen Pigments zurückblieb. Wahrscheinlich hat es sich dabei um normales, durch die Bestrahlung gebildetes Hautpigment gehandelt. Näheres darüber ließ sich wegen der geringen Menge nicht feststellen.

III. Über den Sitz der Silberniederschläge in der Haut.

Über den Ort der Ablagerung des Argyrosepigments beim Menschen lauten die Meinungen ziemlich übereinstimmend. Fast ausnahmslos wurde das Silber im bindegewebigen Teil, dem Corium, gefunden. Das Deckepithel

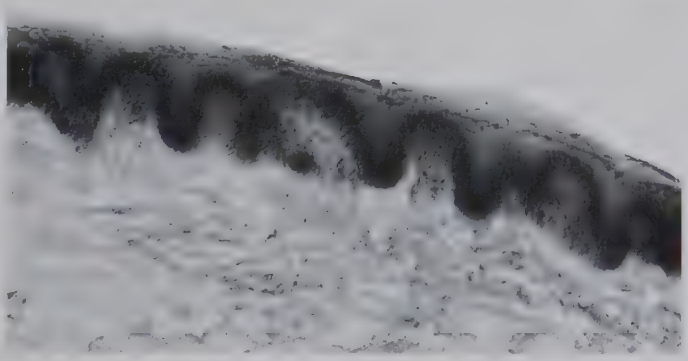


Abb. 2a. Schweineohr mit Silbernatriumthiosulfat-Ringer-Lösung durchströmt, 3 Stunden bestrahlt. Hautgefrierschnitt, 50 μ dick, stark vergrößert, Unterlage aus Durchschlagpapier. Starke Silberablagerung in der Epidermis, bis zur Papillargrenze, Corium weniger verfärbt.

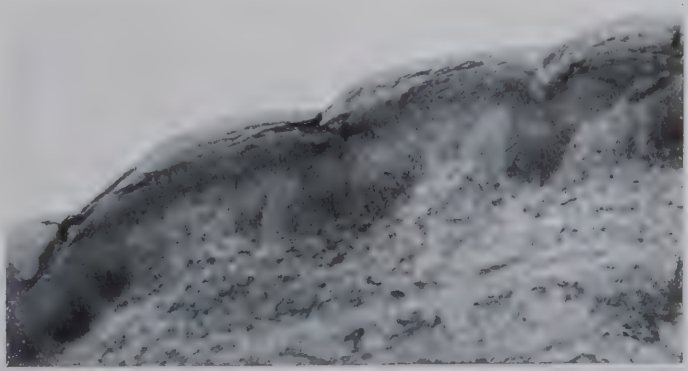


Abb. 2b. Wie 2a, aber unbestrahlt, daher fast keine Silberablagerung.

und seine Anhänge wurden fast immer silberfrei angetroffen. (Habermann[23], Kugelmeier[2], Kobert[56], Kanitz[62], Heubner[69], Zoon[74].) Nur wenige Autoren (Knack[1], Sotgiu[40]) fanden auch die menschliche Epidermis und ihre Adnexe (Haarbälge, Drüsen) silberhaltig, während im Tierversuch Silber in der Epidermis eines Hundes von Dechant[99] nachgewiesen wurde.

Bei meinen mikroskopischen Untersuchungen der Hautschnitte * von Schwein und Kaninchen fand sich dagegen das Silber hauptsächlich in der Epidermis und ihren Anhangsgebilden, und zwar in solcher Stärke, daß sich bei der Betrachtung der ungefärbten, etwa 50 μ dicken Gefrierschnitte mit dem bloßen Auge die silbergesäumte Epidermis deutlich vom Corium abhob. Der Unterschied zwischen silberbeladener Epidermis und silberärmerer Cutis trat im mikroskopischen Bild besonders schön zutage, wenn ein Stückchen Schreibmaschinendurchschlagpapier zwischen Kondensor und Objektträger gelegt wurde. Abb. 2 gibt die Aufnahme eines mit Silbernatriumthiosulfat durchströmten, bestrahlten Präparats (a) im Vergleich zur unbestrahlten Haut (b) wieder. Die Farbe der betroffenen Partien schwankte zwischen gelb, goldbraun bei Silbernatriumcyanid, rotbraun und schwarzbraun bei Silbernatriumthiosulfat. Die Silberablagerungen erfüllten die Epidermis hauptsächlich in der Keimschicht bis herab zur Papillargrenze. Mitunter wurden im Deckepithel zwei parallel verlaufende Pigmentsäume übereinander beobachtet. Das Corium zeigte auch Silberverfärbung, besonders an der oberen Grenze der Coriumpapillen, doch war im ganzen die Intensität der Färbung bei gewöhnlicher mikroskopischer Betrachtung im durchfallenden Licht viel geringer als in der Epidermis. Bis in das subcutane Bindegewebe reichte die Silberverfärbung meist nur mit Spuren. Nur die dort gelegenen Epidermisgebilde wiesen gleich starke Versilberung auf wie die Epidermis selbst. Bei Betrachtung im Dunkelfeld zeigte sich aber, daß auch das Corium sehr merkliche Mengen von Silberkörnchen enthielt.

Die Lage des Silberpigments konnte an 5 μ dünnen Schnitten durch die Beobachtung im Hell- und Dunkelfeld noch genauer bestimmt werden. Schon bei der Betrachtung mit mittelstarker Vergrößerung im Hellfeld war das scharfe Hervortreten der Zellgrenzen in der Epidermis auffällig. Die Bilder sahen aus, als seien die Grenzen der einzelnen Zellen mit dünnen Federstrichen gegeneinander abgesetzt. Bei der Auflösung der Strukturen mit stärkster Vergrößerung traten die Silberpigmentkörnchen in Erscheinung. Sie waren schwärzlich gefärbt, ungefähr gleich groß und erfüllten in reicher Zahl die zwischen den Epidermiszellen befindlichen

[97] Stillians: Zbl. Hautkrkh. **37**, 697 (1931). — [98] Shimizu: Nagoya J. med. Sci. **9**, 175 (1935). — [99] Dechant, Mh. prakt. Tierheilk. **22**, 1 (1911).

* Sämtliche Schnitte wurden im Pathologischen Institut der Universität Greifswald hergestellt, wofür ich dem Direktor des Instituts, Herrn Prof. Dr. Loeschcke, meinen Dank abstatte.

Saftspalten. Das Silber lag also vorwiegend interzellulär. In die Zellen selbst dringt es anscheinend nur in geringem Ausmaße in Form feinster Granula ein. Im Bindegewebe des Coriums lagen die Silberkörnchen überall verstreut, ohne daß ihre Lagebeziehung zu den Bindegewebszellen sicher ausgemacht werden konnte. — Bei Anwendung der Leuchtbildmethode nach Hoffmann (Habermann[23]) leuchteten in den Interzellularräumen der Epidermis etwa gleichmäßig große, perlschnurartig aneinandergereihte Silberkörnchen mit gelblicher Farbe auf. Stratum corneum und Stratum lucidum waren annähernd frei von Silber. In den Zellzwischenräumen der epithelialen Anhangsgebilde zeigten sich genau wie in der Epidermis leuchtende Silberkörnchen. In den Epithelzellen selbst schien sich Silber höchstens in feinster Verteilung zu befinden. Das Bindegewebe des Coriums war von etwas größeren Silberkörnchen durchsetzt, die hier mit rötlichem Schimmer aufleuchteten. Nach dem subcutanen Bindegewebe zu war eine erhebliche Abnahme der leuchtenden Silberteilchen festzustellen. Die dort gelegenen Drüsen enthielten aber, wie erwähnt, in den Saftspalten zwischen den Drüsenzellen aneinandergereihte, leuchtende Granula. Oftmals war ein subepithelialer Saum von leuchtenden Silberteilchen angedeutet, ebenso hob sich das die Drüsen umgebende Bindegewebe durch eine besonders reichliche Zahl leuchtender Punkte heraus.

Die wiedergegebenen Befunde an der bestrahlten Schweinehaut weichen also von den bei der Argyrose des Menschen erhobenen insofern wesentlich ab, als sich das Silber in der Epidermis und ihren Anhängen vorfand. Es erscheint naheliegend, den Grund hierfür darin zu suchen, daß die an reduzierenden Sulfhydrilkörpern reiche Epidermis der Belichtung viel stärker ausgesetzt ist als das darunterliegende Corium. Das würde besonders für den stark absorbierbaren kurzwelligen Anteil des Ultravioletts zutreffen. Auffallend ist aber, daß die tief ins Corium herabreichenden Haarbälge und Haarbalgdrüsen sowie auch die Schweißdrüsen eine ebenso starke Färbung ihres Epithels aufweisen wie die Epidermis selbst. Die Verhältnisse sind hier also noch ungeklärt. Vielleicht werden auch ursprünglich vorhandene Unterschiede sekundär verwischt, wenn die Schnitte bei der Behandlung über lange Zeit dem Tageslicht ausgesetzt sind.

Wenn also abschließend hervorzuheben ist, daß sich die im kurzfristigen Durchströmungsversuch erzeugte Silberverfärbung hinsichtlich der Lokalisation des Silberpigments von der durch langdauernde Silbermedikation entstandenen Argyrie unterscheidet, so wäre es doch wohl verfehlt, anzunehmen, daß die Vorgänge, die zur Silberablagerung führen, in beiden Fällen grundsätzlich voneinander abwichen. Sie unterscheiden sich zweifellos dadurch, daß der Zeitraum, in welchem eine gewisse Silbermenge bei der Argyrie die Haut passiert, viel größer ist als im Ohrversuch. Die Möglichkeit zur sekundären Umwandlung, vielleicht auch zum Abtransport des niedergeschlagenen Silbers ist also bei der Argyrie in ganz

anderem Maße gegeben als im Durchströmungsversuch. Zwei Annahmen aber erscheinen nicht sehr wahrscheinlich: Erstens die Annahme, daß die Haut mit der durchfließenden Silberlösung bei der Argyrie von vornherein anders reagieren sollte als im Ohrversuch, und zweitens die Annahme, daß die Reaktion bei der Argyrie nur an ganz bestimmten Orten des Stützgewebes stattfinden sollte. Da die Hautschicht, welche die stärksten Reduktionskräfte entfaltet, die Basalzellenschicht der Epidermis ist, wird die Epidermis wohl auch bei der Argyrie von der Erzeugung der Niederschläge nicht ausgeschlossen sein. Dafür sprechen ja die Befunde in den bereits aufgeführten Fällen [1, 40]. Auch Heubner [69] läßt die Möglichkeit offen, daß die Epidermis an der Niederschlagung des Silbers beteiligt sein kann. Wenn trotzdem in der Mehrzahl der untersuchten Fälle die Epidermis völlig silberfrei gefunden wurde, so könnte das daran liegen, daß das dort deponierte Silber sekundär wieder in lösliche Form übergeführt und mit dem Lymphstrom abtransportiert wird, bis es schließlich an Orten geringerer Stoffwechselintensität liegenbleibt. Solche sekundären Ortsveränderungen zieht auch Heubner [69] durchaus in Betracht. Man kann annehmen, daß das Silber wegen seiner besseren Löslichkeit Umlagerungsprozessen viel leichter anheimfällt als das Gold, woraus verständlich würde, daß bei der Chrysosis, welche sonst der Argyrosis in wesentlichen Punkten analog ist, der Goldniederschlag auch in der Epidermis gefunden wird und deshalb ein Gegensatz zum kurzfristigen Durchströmungsversuch hier viel weniger hervortritt. Im Hinblick auf die meist sehr alten Fälle von Argyrie ist außerdem noch besonders zu berücksichtigen, daß ja die Epidermis im Gegensatz zum Corium ein in steter Erneuerung begriffenes Gewebe darstellt und aus diesem Grunde das Silber schwerlich in ihr zu finden sein wird.

B. Gold.

Nachdem die Anwendung von Goldverbindungen seit geraumer Zeit in der Tuberkulosetherapie und bei anderen Erkrankungen fortlaufend eine Zunahme erfahren hatte, wurde von Hansborg [100] auf eine Erscheinung nach Goldbehandlung aufmerksam gemacht, bei der bestimmte Bezirke der Haut graublau verfärbt waren. Da diese Verfärbung weitgehende Übereinstimmung mit der Argyrosis cutis zeigte, bürgerte sich für sie die Bezeichnung Chrysosis (Chrysiasis) bzw. Aurosis (Auriasis) ein. Von französischer Seite wurde der Name Chrysocyanose vorgezogen. Später haben eine Reihe von Autoren [101–113] weitere Fälle derartiger Goldpigmentierungen beobachtet.

Ich habe versucht, die Fragen der Lichtwirkung, der chemischen Natur des Goldniederschlages und seines Sitzes in der Haut in ähnlicher Weise zu klären wie bei den Silberversuchen.

[100] Hansborg: Acta tbc. scand. (Dän.) **4**, 124 (1928).

I. Über die Rolle des Lichtes bei der Entstehung der Goldverfärbung.

Daß das Licht bei der Entstehung der Chrysosis eine ausschlaggebende Rolle spielt, wird im Gegensatz zur Argyrosis übereinstimmend bekundet [100, 102–104, 107–109, 112]. Mit besonderem Nachdruck wird dies von Zimmerli [101], Sallmann [105], Fowler [110] und Kochs [113] unterstrichen, die innerhalb der verfärbten Hautgegend vor Licht geschützte Hautfalten pigmentfrei antrafen. Kochs [113] und Bernard [106] konnten sogar den experimentellen Beweis für die photochemische Umwandlung der Goldverbindungen in der Haut bringen. Sie bestrahlten zu diesem Zweck bei ihren an Chrysosis leidenden Kranken unverfärbte, bisher vor Licht geschützte Hautstellen mit Ultraviolettlicht und fanden danach diese Hautstellen blaugrau pigmentiert. Zur Prophylaxe empfiehlt deshalb Fowler [110] den mit Gold behandelten Kranken, Sonnen- und Höhensonnenbestrahlung zu vermeiden. Von nur vorzugsweisem Befallensein der belichteten Haut spricht Cardis [111], und in den Handbüchern wird der gleiche Standpunkt vertreten (Mayer [114], Schlossmann [115], Kumer [116]).

Vorversuche.

Um die Auswirkung einer Lichtbestrahlung beim Gold zunächst an Modellversuchen kennenzulernen, arbeitete ich analog den Silberversuchen unter Benutzung der organischen Goldverbindungen Triphal, Solganal und Lopion. Sowohl die reinen als auch die mit einem Zusatz von 0,2‰ Cystein versehenen 0,1%igen Lösungen dieser Stoffe in Ringer wurden in großen Quarzgläsern der Bestrahlung unter der Quecksilberdampflampe ausgesetzt. Es bedurfte vielstündiger Bestrahlung, um eine schwache Goldgelb- bis Braunfärbung der Lösungen zu erzielen. Der Farbton der cysteinhaltigen Lösungen war dabei immer stärker ausgeprägt als der der cysteinfreien. Die unbestrahlten Kontrollproben blieben unverändert.

Entsprechend dieser schweren Zersetzbarkeit der Goldverbindungen im Reagensglas bildeten sich an den mit 0,5%iger Solganal- oder Lopionlösung durchströmten und bestrahlten Ohren während 2—3-stündiger Bestrahlungszeit überhaupt keine Goldniederschläge in der Haut aus. Die organischen Goldpräparate enthalten offenbar das Gold in ziemlich fester Bindung, so daß es im kurzfristigen Versuch nicht gelingt, sichtbare Mengen von Gold durch Bestrahlung in der Haut zur Ablagerung zu bringen. Daß bei langdauerndem Verweilen dieser Verbindungen

[101] Zimmerli u. Lutz: Arch. Derm. (D.) **157**, 523 (1929). — [102] Lorenzen: Beitr. Klin. Tbk. **76**, 686 (1930). — [103] López: Progr. Clínica **39**, 402 (1931). — [104] Nové-Josserand, Gaté, Charpy, Josserand u. Cuilleret: Bull. Soc. franç. Derm. **38**, 117 (1931). — [105] Sallmann: Z. Augenhk. **79**, 208 (1932). — [106] Bernard, Blanchy, Mayer u. Mallarmé: Bull. Soc. méd. Hôp. Paris III s. **49**, 1061 (1933). — [107] Ramel: Zbl. Hautkrkh. **46**, 17 (1933). — [108] Cascos: An. Med. Intern. **3**, 83 (1934) [108a] Egues: Rev. Asoc. med. Argent. **48**, 157 (1934). — [109] Rathery, Dérot, Doubrow u. Jammet: Bull. Soc. méd. Hôp. Paris III s. **50**, 1217 (1934). — [110] Fowler: Tubercle **16**, 539 (1935). — [111] Cardis u. Conte: Ann. Derm. (Fr.) **7**, 229 (1936). — [112] Schneidewind, Albertal u. Trajtenberg, Rev. Asoc. med. Argent. **50**, 538 (1937). — [113] Kochs: Arch. Derm. (D.) **187**, 323 (1939). — [114] Mayer: In Handb. Haut- u. Geschlechtskrkh. Bd. IV, 2, S. 85 (1933). — [115] Schlossmann: In Heffters Handb. exper. Pharm. Bd. III, 3, S. 2140 (1934). — [116] Kumer: In Arzt-Zieler, Die Haut- u. Geschlechtskrkh. Bd. II, S. 114 (1935).

im menschlichen Körper dennoch genügende Mengen Gold abgespalten werden, um eine Chrysosis der Haut hervorzurufen, wird durch den oben erwähnten Fall von Kochs[113] eindeutig bewiesen.

Bei den anorganischen Goldsalzen liegen die Verhältnisse günstiger. 0,1%ige Goldnatriumchloridlösung blieb bei $^3/_4$stündiger Bestrahlung klar und hellgelb wie die vor Licht geschützte Lösung. Die mit 0,2‰ Cystein versetzte, opaleszierend getrübte Lösung färbte sich durch die Bestrahlung tiefrot, die unbestrahlte rötlichgelb. Nach Stunden und Tagen waren sowohl die bestrahlte wie die unbestrahlte, reine Goldnatriumchloridlösung noch klar und hellgelb. Aus der bestrahlten, cysteinhaltigen Lösung hatte sich inzwischen ein roter Niederschlag von metallischem Gold abgesetzt. Die unbestrahlte, cysteinhaltige Probe nahm im Laufe von Stunden und Tagen rote Farbe an und schied zum Schluß ebenfalls einen roten Goldniederschlag aus. — Goldnatriumthiosulfat (Sanocrysin) zeigte in reiner Lösung nach $^3/_4$—1stündiger Bestrahlung gelbbraune Verfärbung, während die cysteinhaltige Lösung sich stark braun färbte und reichlich braunen Niederschlag absetzte. Die unbestrahlten Sanocrysinlösungen blieben unverändert. Nach 24 Stunden hatten sich in beiden bestrahlten Proben braune Niederschläge — wohl zum größten Teil Goldsulfid — abgeschieden, von den unbestrahlten war nur die cysteinhaltige gelblichweiß getrübt.

Hauptversuche.

Bei der Durchströmung von Kaninchenohren mit 0,2—0,5%igen Goldnatriumchloridlösungen ergaben sich Schwierigkeiten: Der Durchfluß wurde stark verlangsamt und kam schließlich zum Stillstand. Heubner[117] schreibt dem Goldnatriumchlorid kapillarlähmende Eigenschaften zu. Daß die hieraus zu folgernde Durchflußbeschleunigung in meinen Versuchen nicht eintrat, könnte auf Unterschiede in der Konzentration zurückgeführt werden. Nachträglich jedoch fand ich, daß Feldt[118, 119] die Kapillarlähmung durch Goldsalze als fraglich hinstellt. Auch v. Issekutz[120] sah am Froschgefäßpräparat keinen lähmenden, sondern einen verengernden Effekt. Heubner[121] selbst ist später in der Frage der Kapillarlähmung durch Gold zurückhaltender geworden. In drei Versuchen gelang es mir immerhin, anfangs je 10—20 ccm der Goldnatriumchloridlösung durch die Ohren hindurchfließen zu lassen. Nach $1^1/_2$stündiger Bestrahlung konnte entsprechend der geringen Menge des ins Gewebe gelangten Goldsalzes nur eine leicht hellbraune Verfärbung der bestrahlten Hautstellen festgestellt werden. Bemerkenswert war aber, daß die Gefäße, welche Goldnatriumchloridlösung enthielten, im bestrahlten Bezirk blauschwarz gefärbt waren, so daß sich das fein verzweigte Adernetz vom übrigen Gewebe deutlich abhob. Daraus ging hervor, daß das Goldnatriumchlorid innerhalb der Gefäße unter dem Einfluß der Belichtung zersetzt worden war.

---

[117] Heubner: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **56**, 370 (1907). — [118] Feldt: Münch. med. Wschr. **67**, 1500 (1920). — [119] Feldt: Klin. Wschr. **5**, 299 (1926). — [120] v. Issekutz: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **152**, 318 (1930). — [121] Heubner: Beitr. Klin. Tbk. **59**, 179 (1924).

Für die weiteren Versuche gelangte Sanocrysin* zur Verwendung. Dieses ist ein in der Tuberkulosetherapie viel gebrauchtes Auronatriumthiosulfat von der Formel $Na_3(Au(S_2O_3)_2)$ mit etwa 37% Goldgehalt, welches sich farblos in Wasser löst. Es ruft keine Eiweißfällung hervor, ist also nicht ätzend, und wird verhältnismäßig schnell vom Körper aufgenommen (Mattei[122]). Während Goldnatriumchlorid in Lösung stets Goldionen abspaltet, ist das beim Sanocrysin nur wenig der Fall (v. Neergaard[123]). Es kann als Komplex resorbiert werden, aus welchem das Gold offenbar erst im Gewebe in Freiheit gesetzt wird (Christeller[124], Orestano[125]). Die Durchströmung der Ohren mit Sanocrysin gelang ebenso leicht wie mit den organischen Goldpräparaten. In 10 Versuchen wurden, wie beim Silber beschrieben, Kaninchen- und Schweineohren während des Durchflusses einer 0,5%igen Sanocrysin-Ringer-Lösung durchschnittlich $2^1/_2$ Stunden lang durch die Schablone bestrahlt. Es konnte dabei immer eine Goldverfärbung der Haut erzielt werden. Die bestrahlten Stellen wiesen Goldablagerungen verschiedener Intensität und Farbe auf. Braune, violette und blauschwarze Farbtöne oder ein Gemisch davon konnten vertreten sein. Die unbelichtete Haut blieb ziemlich unverändert weiß. Beim längeren Liegenlassen am Licht dunkelte sie zwar allmählich nach, doch war die Nachdunkelung niemals sehr ausgeprägt und jedenfalls immer wesentlich geringer als bei den Silberversuchen. Abb. 3 gibt das Resultat eines Versuches an weißen Kaninchenohren wieder.

Abb. 3. Weiße Kaninchenohren. Beide mit Sanocrysin-Ringer-Lösung durchströmt. Streifenförmiger Bezirk 3 Stunden bestrahlt übrige Haut vor Licht geschützt. An bestrahlten Stellen braunschwarze Verfärbung, unbestrahlte Haut fast unverändert.

* Für die mir in entgegenkommender Weise zur Verfügung gestellten Versuchsmengen von Sanocrysin danke ich der Dansk Chemo-Therapeutisk Selskab, Kopenhagen, verbindlichst.

[122] Mattei: Arch. ital. Sci. farmacol. **1**, 2 (1932). — [123] v. Neergaard: Schweiz. med. Wschr. **7**, 1026 (1926). — [124] Christeller, Zbl. Path. **40**, Erg.-H., 173 (1927). — [125] Orestano: Arch. internat. Pharmacodynam. **44**, 426 (1933).

Über den Anteil, der den Strahlen verschiedener Wellenlänge bei der Ausbildung der Pigmentation zukommt, wurde mit Hilfe der erwähnten Filter in drei Versuchen die gleiche Beobachtung wie beim Silber gemacht. Die stärkste, braunschwarze Goldpigmentierung kam durch das gesamte Licht der Quarzlampe zustande. Eine etwas schwächere, violette bis blauschwarze Pigmentation wurde vom sichtbaren Licht zusammen mit dem langwelligen Ultraviolett hervorgerufen, noch schwächere, graublaue Verfärbung durch das sichtbare Licht allein, doch zeigte auch dieses noch deutliche Wirkung.

Wie schon erwähnt, kommen die Pigmentierungen der Haut durch Gold fast ausschließlich unter dem Einfluß des Lichtes zustande, während die unbelichtete Haut des durchströmten Ohres eine nur langsame oder gar keine Goldverfärbung zeigt. Dieses Ergebnis steht mit den Beobachtungen über die Chrysosis der menschlichen Haut in vollem Einklang. Das Licht wirkt reduzierend, indem es, abgesehen von der sehr geringen direkten Wirkung, auch hier das Reduktionsvermögen der Sulfhydrilgruppen und der anderen reduzierenden Hautbestandteile beträchtlich verstärkt. Das durch den Reduktionsvorgang aus seinen Verbindungen niedergeschlagene Gold wird in der bestrahlten Hautpartie so stark angereichert, daß es die sichtbare Verfärbung hervorruft.

II. Über die chemische Natur des Goldniederschlages.

Nach dem Ausfall der Bestrahlungsversuche konnte angenommen werden, daß die infolge Reduktion entstandenen Niederschläge in der Haut elementares Gold darstellten. Für die Chrysosis des Menschen wird die Ansicht, daß Goldpräparate in der lebenden Haut zu metallischem Gold reduzierbar sind, von Hansborg[100], Bernard[106], Kochs[113] und Mayer[114] vertreten. Ganz eindeutig spricht sich Sallmann[105] für das Vorliegen von metallischem Gold bei der Chrysosis cutis aus, wobei er ausdrücklich auf die leichte Reduzierbarkeit der Edelmetallverbindungen als eine ihrer hervorstechendsten Eigenschaften Bezug nimmt. Lisch[126] hält nach seinen Untersuchungen über die Chrysosis bulbi die Ablagerungen im Auge ebenfalls für metallisches Gold.

Nach Heubner[91] kommt bei der Chrysosis neben Goldsulfid auch metallisches Gold in Frage. Korteweg[127] fand nach längerer Behandlung von Kaninchen mit Sanocrysin zwei verschiedene Arten von Pigment abgelagert. Die der Lichteinwirkung zugängliche Hornhaut der Tiere enthielt blauschwarze Ablagerungen, die nach ihrem chemischen Verhalten als metallisches Gold angesprochen wurden. Ihre Entstehung wird von Korteweg[127] auf Lichteinfluß zurückgeführt. Ein nach seinen chemischen Reaktionen für Goldsulfid gehaltenes Pigment von gelber Farbe wurde

[126] Lisch: Klin. Mbl. Augenhk. **102**, 103 (1939). — [127] Korteweg, Watermann u. Winkler-Prins: Ndld. Tschr. Geneesk. **72** I B, 2063 (1928).

in allen inneren Organen gefunden. Timm [128, 129] stellte nach Einspritzung von Sanocrysin in Leber und Niere von Meerschweinchen ebenfalls Goldsulfid fest, allerdings nach verhältnismäßig kurzer Versuchsdauer. Auf die Haut erstreckten sich die Untersuchungen von Korteweg [127] und Timm [128, 129] nicht. Da in den inneren Organen, die der direkten Lichtwirkung entzogen sind, naturgemäß andere Verhältnisse obwalten können als in der belichteten Haut, lassen die an den inneren Organen erhobenen Befunde auch keine Schlüsse auf die chemische Natur des in der Haut abgelagerten Goldpigments zu. Sie mußten aber Erwähnung finden, da in den von mir untersuchten Hautschnitten hin und wieder geringe Mengen von gelbem Pigment beobachtet wurden.

Zum Zwecke der Identifizierung des in meinen Versuchen in der Haut abgelagerten Goldpigments wurde sein Verhalten gegenüber gelbem Schwefelammonium und Natriumcyanid herangezogen.

Metallisches, rotes Gold wurde aus Goldnatriumchloridlösung durch Erhitzen mit Oxalsäure hergestellt, das braune Aurosulfid aus 0,2%iger Sanocrysinlösung durch Einleiten von Schwefelwasserstoff gefällt. Der Aurosulfidniederschlag ging in gelbem Schwefelammonium vollständig in Lösung, das metallische Gold dagegen nicht, während in Natriumcyanid beide Niederschläge löslich waren.

Schwefelammonium greift also metallisches Gold nicht an, löst aber die Goldsulfide auf. Cyannatriumlösung bringt sowohl metallisches Gold als auch die Goldsulfide zum Verschwinden.

Die goldverfärbten Hautstücke wurden durch 1%ige Natriumcyanidlösung spätestens innerhalb einer Stunde entfärbt, durch gelbes Schwefelammonium nach vielen Stunden noch nicht verändert. An Hautschnitten verlief die Behandlung mit den Reagentien gleichsinnig. Natriumcyanid löste alle Niederschläge, Schwefelammonium ließ sie fast unbeeinflußt, so daß nachgegebenes Cyannatrium noch wirken konnte. Die Niederschläge mußten also zur Hauptsache aus elementarem Gold bestehen, was übrigens schon bei der bloßen Betrachtung der Schnitte im Hellfeld unter dem Mikroskop, wo die roten und violetten Farben des kolloidalen metallischen Goldes das Feld beherrschten, vermutet werden konnte. Das ist insofern wichtig, als es sich bei dem Sanocrysin um eine Goldthiosulfatverbindung handelt, bei welcher im Reagensglas mit den üblichen Reduktionsmitteln keine Goldabscheidung erzielt werden kann.

Im Reagensglas rief z. B. Oxalsäure beim Erhitzen mit 0,3%iger Sanocrysin-Ringer-Lösung keinen Niederschlag, sondern nur Gelb- bis Braunfärbung hervor. Salzsaure Zinnchlorürlösung ergab erst beim Erhitzen einen blau- bis braunschwarzen Niederschlag, der ziemlich vollständig von Schwefelammonium gelöst wurde und demnach fast nur aus Schwefelgold bestand. Ferrosulfat endlich rief in der Wärme einen blau- bis grünschwarzen Niederschlag hervor, der auf Grund seiner Löslichkeit in Ammoniumsulfid ebenfalls hauptsächlich als Schwefelgold

[128] Timm: Zellmikrochemie der Schwermetallgifte. Habil.-Schrift, S. 28. Leipzig 1932. — [129] Timm: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **20**, 211 (1933).

angesehen werden mußte. Auch die bei der Bestrahlung von Sanocrysin im Reagensglas erhaltenen braunen Niederschläge dürften wohl größtenteils aus Schwefelgold bestanden haben, das vielleicht geringe Beimengungen von Metallgold enthielt. Mit den genannten Reduktionsmitteln konnten übrigens Christeller[124] und Gelarie[130] ebenfalls keine Reduktion von Sanocrysin zu metallischem Gold herbeiführen. Die Annahme, daß sich bei den Reaktionen im Reagensglas neben Schwefelgold auch kleine Mengen von elementarem Gold bilden können, ist sicher nicht ganz abwegig. Entsteht doch auch beim Einleiten von Schwefelwasserstoff in Goldsalzlösungen je nach den Bedingungen Goldtrisulfid, metallisches Gold oder ein Gemisch aus beiden (Gadamer[131]).

Es zeigt sich also, daß die bestrahlte Haut mit dem Sanocrysin wesentlich anders reagiert als die üblichen Reduktionsmittel im Reagensglas. Abweichend von den in den Reagensglasversuchen erzielten Ergebnissen vermag die Haut Auronatriumthiosulfat vorwiegend zu elementarem Gold zu reduzieren.

Die Ansicht von der Reduzierbarkeit der Goldsalze zu Metallgold im menschlichen Organismus findet in den Arbeiten von Orestano[125] eine weitere Stütze. Orestano[125] hebt hervor, daß das Gold eine pharmakologische Wirkung nur ausüben kann, wenn es als Kation im Organismus vorhanden ist. Goldnatriumthiosulfat gelangt nach seinen Untersuchungen zunächst als Komplexverbindung in Kreislauf und Gewebe und entfaltet seine Wirkung später erst dadurch, daß es Gold als Kation abgibt. Dieses kann vom Gewebe allmählich zu elementarem Gold reduziert werden, also zu einer Zustandsform, die nach Orestano[125] für den Organismus im Gegensatz zum Goldion ungiftig ist. Er ist der Auffassung, daß bei langem Verweilen im Körper die aus den löslichen Goldpräparaten abgespaltenen Goldionen diese Reduktion zu metallischem Gold erfahren und als unschädliche Bestandteile im Gewebe deponiert werden. Dem kann nach meinen Versuchen an der Haut zugestimmt werden. Der Körper zeigt offenbar das Bestreben, die für ihn giftigen Goldsalze durch allmähliche Reduktion zu Metallgold, also zu einer für ihn unlöslichen Form zu entgiften. Dazu bedient er sich anscheinend in stärkstem Maße der Haut mit ihrer großen Oberfläche und ihrem Reichtum an reduzierenden Substanzen, vornehmlich an Sulfhydrilkörpern. Zur vollständigen, dem Auge sichtbaren Reduktion bedarf es aber eines weiteren, außerhalb des Organismus gelegenen Faktors, des Lichtes. Erst durch das Zusammenspiel von Licht und Haut kommt es zur Ausbildung der Chrysosis, die damit wohl als Ausdruck einer Entgiftung von lange im Körper verweilenden, für ihn schädlichen Goldverbindungen gewertet werden kann. Dieser Prozeß nimmt anscheinend lange Zeit in Anspruch und kann sich damit nur an Goldverbindungen vollziehen, die, wie z. B. das Sanocrysin, beträchtliche Zeit im Körper verweilen. Das lehrt die Erfahrung Lo-

[130] Gelarie u. Greenbaum: Amer. Rev. Tbc. **12**, 314 (1925). — [131] Gadamer: In Schmidt-Gadamer, Anleitung zur qualitativen Analyse, 10. Aufl., S. 42 (1928).

renzens[102], wonach eine Chrysiasis der Haut beim Menschen durch Sanocrysin erst nach 1—2 Jahren erkennbar wird und etwa 2—3 Jahre zur vollen Ausbildung braucht. Offenbar vollzieht sich erst während eines so langen Zeitraumes die vollständige Reduktion des gesamten sich noch in anderen Verbindungsformen befindenden Goldes zu metallischem Gold.

Es wurde bereits angedeutet, daß in der von mir untersuchten Haut gelegentlich auch geringe Mengen von gelbem Pigment beobachtet werden konnten, wie es von Korteweg[127] und Timm[128, 129] beschrieben wurde. An den Hautstückchen schien manchmal ein unerheblicher, gelb bis bräunlich gefärbter Anteil des Pigments, der in der oberflächlichen Schicht seinen Sitz hatte, durch Ammoniumsulfid herausgelöst zu werden. Auch in den Hautschnitten befanden sich in der Epidermis manchmal kleine Mengen dieses goldgelben, in Schwefelammonium löslichen Pigments, welches demnach nicht aus Metallgold bestand. Es ist nicht ausgeschlossen, daß es sich um Goldsulfid handelte. Größere Wahrscheinlichkeit hat die Annahme für sich, daß es zur Bildung von Sulfhydril-Goldverbindungen als Vorstufen des metallischen Goldes gekommen war. Voegtlin[132] konnte derartige Sulfhydril-Golddoppelverbindungen beim Glutathion nachweisen, das auf diese Weise zum Entgiftungsmittel für Goldsalze wird. Kochs[113] hält die Möglichkeit der Entstehung solcher Verbindungen auch in der menschlichen Haut für gegeben. Eine Erklärung für die Bildung des gelben Pigments in meinen kurzfristigen Versuchen in der Epidermis könnte darin gesucht werden, daß bei dem großen Angebot von Goldsalz dieses zunächst durch Überführung in eine Sulfhydrildoppelverbindung unschädlich gemacht wurde, ehe seine vollständige Reduktion zu Metallgold erfolgen konnte. Für diese Auffassung sprach die Beobachtung, daß im mikroskopischen Bild das gelbe Pigment kontinuierlich über gelbrötliche Töne in das rot bis violett gefärbte, kolloidale Gold überging.

III. Über die Lokalisation des Goldniederschlages in der Haut.

Über die Lokalisation des Pigments gab die Untersuchung der Gefrierschnitte der Haut unter dem Mikroskop näheren Aufschluß. Zum Unterschied vom Silber wurde sie dadurch erleichtert, daß die Goldniederschläge das Gewebe prachtvoll gefärbt hatten. Es waren ungemein bunte Bilder entstanden, in denen die Farben Goldgelb, Gelbrot, Rosa, Hochrot, Violett, Blau und Blauschwarz vertreten waren, jedoch herrschten Rot und Violett vor, also Farbtöne, die für metallisches Gold in feinster Verteilung charakteristisch sind. An der Schweinehaut war außer der Epidermis und dem Corium auch das subcutane Bindegewebe, aber in wesentlich geringerem Maße, angefärbt. Am Kaninchenohr erstreckte sich die Färbung mit ausgeprägten roten und violetten Tönen bis in die Subcutis und das Perichondrium, ja an einigen Stellen bis in das Knorpelgewebe hinein. Im allgemeinen aber bildete der Knorpel eine Scheidewand; die jenseits von ihm gelegene, also vor Licht geschützte Unterseite der Kaninchenohren war in allen ihren Teilen farbfrei. Bei stärkerer Vergrößerung zeigte die Epidermis von Schwein- und Kaninchen die verschiedensten Farbtöne in buntem Durcheinander. Ihre Zellgrenzen und die der Hautanhangs-

[132] Voegtlin, Johnson u. Dyer: Proc. nat. Acad. of Sci. U. S. A. **11**, 344 (1925).

gebilde waren wie beim Silber scharf umrissen. An der Grenze von Corium und Epidermis trat oft deutlich ein violetter bis schwarzblauer Farbsaum hervor, von dem aus sich ebensolche Niederschläge in die Epidermis hinein fortsetzten. Corium und Subcutis waren rot bis violett gefärbt. Die elastischen Fasern hoben sich durch die tiefere violette oder schwarze Farbe vom übrigen Bindegewebe ab. Hierdurch waren auch in den Gefäßwänden die elastischen Fasern von der gelbroten Muskulatur zu unterscheiden. Die im subcutanen Bindegewebe liegenden Drüsen zeichneten sich durch blauschwarze Färbung aus. Die Wiedergabe der beschriebenen Verhältnisse kann bei der Buntscheckigkeit des Bildes durch eine Schwarzweißaufnahme nur unvollkommen erfolgen (Abb. 4). Doch kommt die

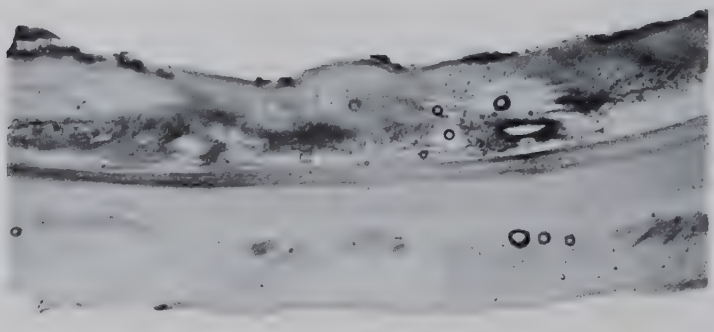


Abb. 4. Kaninchenohr. Mit Sanocrysin-Ringer-Lösung durchströmt, bestrahlt $2^1/_2$ Stunden. Hautgefrierschnitt, 50 μ dick, stark vergrößert.
Haut oberhalb des Knorpels von der Epidermis bis zum Perichondrium stark mit Gold imprägniert. Haut unterhalb des Knorpels vor Licht geschützt, daher fast goldfrei.

starke Verfärbung des oberhalb des Knorpels gelegenen Gewebes durch das Gold im Vergleich zur vor Licht geschützten unteren Hälfte des Kaninchenohres in der Abbildung ganz gut zum Ausdruck. Ein naturgetreues Festhalten der Farben ist in den angefertigten Farbaufnahmen gelungen.

Bei stärkster Vergrößerung sieht man an dünnen Schnitten (5 μ) die Niederschläge in Form dunkler Körnchen in den Interzellularen der Epidermis. Das Corium ist in seiner Gesamtheit von dem Goldniederschlag durchsetzt. Unter Zuhilfenahme der Leuchtbildmethode nach Hoffmann (Habermann[23]) ließen sich in den Zellzwischenräumen der Epidermis, der Haarbälge und der Drüsen rötlich aufleuchtende, aneinandergereihte Goldkörnchen erkennen. Sie waren aber nicht überall, sondern nur an einzelnen Stellen anzutreffen. Das Stratum corneum war fast frei von Gold. Im Corium befanden sich massenhaft rot- bis goldgleißende Partikelchen, die fast ein wenig größer erschienen als die Silberkörnchen. Besonders gehäuft lagen sie in dem die Drüsen und Haarbälge ein-

scheidenden Bindegewebe. Sie reichten bis in die Subcutis, am Kaninchenohr bis in das Perichondrium und sogar bis in das Knorpelgewebe hinab. Im unbestrahlten Gewebe machten sich ebenfalls vereinzelt leuchtende Punkte bemerkbar. Ihre Entstehung war wohl auf nachträglich bei der Behandlung der Schnitte am Licht entstandenes Gold zurückzuführen.

Die Lokalisation des Goldes in der Haut zeigte ziemliche Übereinstimmung mit der von der menschlichen Haut her bekannten. Auch die Ablagerung des Goldpigments in der Epidermis stellt nichts Außergewöhnliches dar, da sie Kochs [113] ebenfalls in der menschlichen Haut wahrnahm.

Die Bilder, die sich im kurzfristigen Durchströmungsversuch mit Goldlösung erzielen lassen, zeigen also insgesamt sowohl in bezug auf die chemische Natur des Niederschlages wie auch in bezug auf die Lokalisation desselben weit engere Beziehungen zu der durch längere Golddarreichung entstandenen Chrysosis, als sie sich zwischen den Silberversuchen und der Argyrosis auffinden lassen. Die Ursachen hierfür wurden bereits beim Silber erörtert.

Schlußbemerkungen.

Es wurde bereits erwähnt, daß der Reduktionsvorgang, der zur Ablagerung des metallischen Silbers oder Goldes in der Haut führt, als ein Entgiftungsvorgang aufgefaßt werden könnte, der das Ziel hat, das Silber und Gold aus ihren löslichen und deshalb giftigen Verbindungen in die unlösliche und deshalb ungiftige Form des reinen Metalls überzuführen. Hieraus entsteht die Frage, ob nicht die Argyrose und Chrysose uns eine Funktion der Haut, und insbesondere der belichteten Haut, vor Augen führt, welche weit allgemeinere Bedeutung hat, als man anzunehmen geneigt ist, wenn man diese Dinge nur vom Standpunkt der Schwermetalltoxikologie aus betrachtet.

In der dermatologischen Literatur des letzten Jahrzehnts hat die von E. Hoffmann [133] begründete Lehre von der „Esophylaxie" einen weiteren Ausbau erfahren. Nach dieser Lehre erschöpft sich die physiologische Aufgabe der Haut nicht in ihrer Funktion als Integument und als Wärmeregulations-, Exkretions-, Sinnes- und Ausdrucksorgan, vielmehr besitzt die Haut eine „nach innen gerichtete Schutz- und Heilkraft". Der aus der klinischen Erfahrung entstandene Rahmenbegriff der Esophylaxie kann aber nur dann mit Inhalt erfüllt werden, wenn sich die Einzelfaktoren erfassen lassen, aus denen sich die Schutz- und Heilkraft der Haut zusammensetzt. Von den bisher aufgefundenen Einzelfaktoren ist die photochemische Entstehung des antirachitischen Vitamins in der Haut der wichtigste. Die allgemein physiologische Bedeutung der Haut wird aber zweifellos auch von ganz anderen Vorgängen mit bestimmt. Faßt man unter diesen die entgiftende Wirkung der Haut ins Auge, so kann man

[133] Hoffmann: Derm. Z. **59**, 155 (1930).

sich mit Vorteil den Sulfhydrilgehalt der Haut mit seinen Reduktionswirkungen und die Beschleunigung dieser Reduktionswirkungen durch Licht zunutze machen.

Unter diesem Gesichtspunkt gewinnen die in der vorliegenden Arbeit angestellten Untersuchungen über die Gold- und Silberablagerungen in der Haut den Anschluß an eine Reihe von Literaturdaten über die entgiftende Wirkung der Sulfhydrilgruppe. Hier sind vor allen anderen die Untersuchungen von Rosenthal und Voegtlin[134] über die Entgiftung des Arseniks durch Cystein und SH-Glutathion zu erwähnen, weil die Reduktion des Arseniks, welche dieser Entgiftung zugrunde liegt, eine gewisse Analogie zur Reduktion der Gold- und Silberverbindungen darstellt.

Allerdings ist, wenn man nach dem Nutzeffekt solcher Entgiftungen für den Gesamtorganismus fragt, zu bedenken, daß sie mit dem Verbrauch körpereigener Sulfhydrilgruppen einhergehen, welche dadurch ihren sonstigen Aufgaben entzogen werden. Die Tendenz der Rosenthal-Voegtlinschen Arbeit[134] war ja auch nicht nur auf die Auffindung von Entgiftungsmitteln für den Arsenik gerichtet, sondern nicht minder auf den Angriffspunkt dieses Giftes im lebenden Körper. Letzteres gilt auch für die Untersuchungen von Labes[135] über das Krampfgift Alloxan, das sich ebenfalls an den Sulfhydrilgruppen verankert und durch diese zum Alloxanthin reduziert wird. Immerhin besteht die Möglichkeit, daß die Haut einen Überschuß von Sulfhydrilgruppen besitzt, welcher ohne Schaden zur Giftbindung verwendet werden kann und vielleicht für diesen Zweck bestimmt ist, so daß es keineswegs das gleiche bedeutet, ob körpereigene Thiole in der Haut oder etwa im Zentralnervensystem gebunden werden. Einer solchen Zweckbestimmung könnten die Thiolgruppen der Haut eben deshalb besonders gut dienen, weil sie im Gegensatz zu den Thiolgruppen des Körperinneren dem Licht ausgesetzt sind und mit dessen Hilfe eine vervielfachte Reaktionsgeschwindigkeit entfalten, so daß eine wirksame Entlastung der übrigen Thiole erzielt wird.

Schon die erwähnte Arbeit von Labes[135] über das Alloxan zeigt ferner, daß die Fähigkeit der Sulfhydrilgruppe, Gifte zu binden, sich nicht auf die Metallgifte beschränkt. In diesem Zusammenhange sind auch die Untersuchungen anzuführen, welche über das „Detoxin" angestellt worden sind. Dieses von Jena[136] durch Hydrolyse von Haut- und Stützgewebe hergestellte Präparat ist reich an Sulfhydrilgruppen. Jena[136, 137] gibt an, daß er damit eine Entgiftung von Substanzen verschiedener Herkunft erzielt habe (Blausäure, Nikotin, Strychnin, Arsen, Phosphor, Phenol, Digitoxin, Adrenalin, Histamin), und Keeser[138] fand später, daß das

[134] Rosenthal u. Voegtlin: J. Pharmacol. (Am.) **39**, 347 (1930). — [135] Labes u. Freisburger: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **156**, 226 (1930). — [136] Jena u. Haupt: Dtsch. med. Wschr. **53**, 240 (1927). — [137] Weichardt: Münch. med. Wschr. **74**, 490 (1927). — [138] Keeser: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **122**, 82 (1927).

Präparat im Tierversuch auch sehr deutliche Schutzwirkungen bei der Vergiftung mit Strychnin, Nikotin, Phosphor und Methylenblau ausübt und daß es die Chininzerstörung beschleunigt.

Es erscheint deshalb lohnend, die Versuche an der durchströmten und belichteten Ohrmuschel fortzusetzen mit dem Ziel, die entgiftende Wirkung der belichteten Haut auf breiterer Basis zu studieren und den Entgiftungsmechanismus mit der Reduktionswirkung der photoaktivierten Sulfhydrilgruppen in ursächlichen Zusammenhang zu bringen. Das überlebende Organ bietet für die Lösung einer solchen Aufgabe besser übersehbare Bedingungen als der lebende Gesamtorganismus.

Zusammenfassung.

1. An isolierten Kaninchen- und Schweineohren, die mit Silber- und Goldlösungen durchströmt wurden, wurde der Einfluß der Belichtung auf das Zustandekommen von Silber- und Goldverfärbungen der Haut untersucht. Beim Silber wird die Verfärbung durch Licht stark beschleunigt, beim Gold kommt sie überhaupt erst durch die Mitwirkung des Lichtes zustande.

2. Am stärksten wirken gegenüber den Edelmetallsalzen die kurzwelligen ultravioletten, schwächer die langwelligen ultravioletten, am schwächsten die sichtbaren Lichtstrahlen, doch ist auch deren Effekt noch bedeutsam.

3. Die Verfärbung kommt durch einen Reduktionsvorgang zustande. Die Reduktionswirkung ist in erster Linie auf die Sulfhydrilkörper der Haut zurückzuführen. Das Licht beschleunigt diese Reduktionswirkung.

4. Die Ablagerungen bestehen hauptsächlich aus feinverteiltem metallischen Silber und Gold. Andere Ablagerungsformen sind nur in sehr geringem Maße beteiligt.

5. An der Abscheidung der Niederschläge nimmt die gesamte Haut, die Epidermis und deren Anhänge, das Corium, das subcutane Bindegewebe, gelegentlich sogar noch tiefer gelegenes Gewebe teil. Beim Silber sind Corium und tieferes Gewebe weniger betroffen als beim Gold.

6. Die Versuchsergebnisse werden mit der Argyrosis und Chrysosis cutis des Menschen verglichen. Es werden die Ähnlichkeiten und die Unterschiede hervorgehoben.

7. Es wird vermutet, daß die Metallniederschläge in der Haut das Endergebnis eines langsam verlaufenden Entgiftungsvorganges sind.

Aus der pharmakologischen Abteilung des Reichsgesundheitsamtes.

Diureseversuche an der Maus.

8. Mitteilung:

Von

M. R. Bonsmann.

(Eingegangen am 24. Februar 1942.)

Obwohl im klinischen Arzneischatz eine Reihe sehr wirksamer und zuverlässiger Diuretica vorhanden ist, dürfte es bei den verschiedenartigen Störungen im Wasserwechsel, die erst zu einem geringen Teil klar übersehen werden können, erwünscht sein, neue Mittel zu prüfen, zumal wenn sie im Rufe stehen, keine oder nur geringfügige Nebenwirkungen zu haben, wie es im allgemeinen von homöopathischen Mitteln angegeben wird, oder wenn sie nicht an die Einfuhr vom Auslande gebunden sind. Wir nahmen uns daher vor, über solche Substanzen experimentelle Grundlagen und so für die Berechtigung ihrer Verwendung Anhaltspunkte zu suchen, weil schon ein Tag, der am Krankenbett mit einem unwirksamen Medikament verloren wird, für einen Wassersüchtigen von entscheidender Bedeutung sein kann.

Die vorliegenden Untersuchungen erfolgten im Rahmen der Prüfung der Homöopathie, die im Reichsgesundheitsamt seit über 6 Jahren durchgeführt wird. Vom Herrn Reichsminister des Innern wurde für den vorliegenden Zweck ein größerer Betrag zur Verfügung gestellt, wofür an dieser Stelle bestens gedankt sei.

Die Methodik.

wurde bereits früher beschrieben[1]. Gruppen von je 6 weißen Mäusen, möglichst gleichen Gewichts, wurden die Mittel subcutan injiziert. Verwendet wurden bis auf Apisinum, auf das weiter unten noch einzugehen ist, Urtinkturen, bezogen von der Firma Dr. Willmar Schwabe, Leipzig. Sie wurden dadurch vom Alkohol befreit, daß die Lösungsflüssigkeit im Exsikkator bei Atmosphärendruck und Zimmertemperatur langsam abgedunstet wurde. Der Rückstand wurde in der Regel mit der dem Ausgangsvolumen entsprechenden Menge physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Meist erfolgte klare Lösung. War das nicht der Fall, so wurde mit dem Gummiwischer eine möglichst homogene Verteilung hergestellt und sofort, vor einer Sedimentierung, eingespritzt. Die Injektionsmenge betrug im allgemeinen 0,1—0,2 cm^3. Besonders bei gut wasser-

[1] Bonsmann u. Brakhage: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **175**, 322 (1934).

löslichen Rückständen wurde in höheren Dosen bisweilen eine etwas konzentriertere Lösung als die eben angegebene benutzt.

Zweifellos können gegen die Verwendung solcher alkoholfreien Lösungen, gegen die Einspritzung unter die Haut, gegen die Dosierung, gegen die Auswahl der untersuchten Stoffe und gegen die Tierart Einwände erhoben werden. Auch könnte man bemängeln, daß die Verwendung der Mittel lediglich nach einer klinischen Indikation den Anschauungen der Homöopathie zu wenig Rechnung trägt. Ich habe über alle diese Bedenken hinweg zunächst einmal versucht, mit einer Methodik, die sich mir bei den verschiedenen Klassen der Diuretica gut bewährt hat und die auch von anderer Seite brauchbar befunden wurde[2, 3], bei verschiedenen nach den Vorschriften des Homöopathischen Arzneibuches — lediglich die Aqua Quassiae ist dort nicht aufgeführt — hergestellten Mitteln, die nach dem Schrifttum und eigenen Überlegungen erfolgversprechend erschienen, ein positives Ergebnis zu erhalten. Wo das nicht gelungen ist, betrachte ich den erzielten Befund nicht als endgültig. Immerhin dürfte Veranlassung vorliegen, bei der Beurteilung der Zuverlässigkeit solcher Mittel am Krankenbett einen strengen Maßstab anzulegen.

Die Ergebnisse sind in einer Generaltabelle (I) zusammengefaßt. Wo eine tödliche Dosis (Dl) ermittelt werden konnte, ist sie aufgeführt. Die verabreichte Menge ist meist in % der tödlichen Dosen (in runder Umrahmung) angegeben. Frühere eigene Prüfungen[4] ergaben, daß die diuretische Wirkung meist zwischen 10 und 20% der tödlichen Dosis liegt. In den übrigen Fällen ist die verwendete Menge in cm^3 der Urtinktur bzw. in g oder mg der verwendeten Substanz angegeben. Hier wurde im allgemeinen die höchste Dosis davon abhängig gemacht, wieviel den Tieren nach Flüssigkeitsmenge und Konzentration der Lösung unbedenklich zugemutet werden konnte. Die fett gedruckten Zahlen in den großen Rechtecken der Tabelle sind jedesmal die erzielten Harnmengen, die %-Zahl im kleinen Rechteck rechts oben bedeutet den Diuresewert in Beziehung zur Normalausscheidung.

1. Solidago virga aurea.

Die Goldrute ist als harntreibendes Mittel wohlbekannt. Der originelle Empiriker J. G. Rademacher (1772—1850)[4a] bezeichnet die Pflanze als ein „gar altes und gutes Nierenmittel", und von ihm dürfte sie auch die Homöopathie übernommen haben. In den Arzneimittellehren von K. Stauffer[5] und Heinigke[6] wird sie als Diureticum aufgeführt. In

[2] Vollmer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **186**, 586 (1937). — [3] Oelkers: Ebenda **197**, 193 (1940/41). — [4] Bonsmann u. Müller-Neff: Ebenda **179**, 77 (1935). — [4a] Rademacher, J. G.: Rechtfertigung der . . . Erfahrungsheillehre, Berlin 1843, S. 294 ff. — [5] Stauffer, K.: Klinisch-homöopathische Arzneimittellehre, Regensburg 1926. — [6] C. Heinigkes Handb. d. homöopathischen Arzneiwirkungslehre, III. Aufl., bearb. v. P. Klien. Leipzig 1922.

Ta

	Gruppe I		Gruppe II	
Normalwerte	0,4—0,6 ccm Harn		0,5—0,65 ccm Harn	
Solidago virga aurea Dl : 0,4 ccm/20 g Tier	(12% Dl)	|+ 280% 1,9 ccm H.	(12% Dl)	|+ 400% 3,0 ccm
Asparagus ∅	(0,1 ccm)	|+ 120% 1,1 ccm H.	(0,1 ccm)	|+ 0% 0,5 ccm
	(0,5 ccm)	0,5 ccm H.	(0,2 ccm)	0,5 ccm
		|+ 0%	(0,3 ccm)	0,5 ccm
Taraxacum ∅	(0,2 ccm)	|+ 80% 0,9 ccm H.		
Saponin. alb. pur. (Merck) Dl : 1,2 mg/20 g Tier	(10% Dl)	|+ 120% 1,1 ccm H.		
Kaliumchlorid Dl : 0,04 g/20 g Tier	(0,15 mg)	|+ 0% 0,5 ccm H.	(0,3 mg)	|+ 0% 0,4 ccm
Apisinum D_2	(0,06 g)	|+ 260% 1,8 ccm H.	(0,06 g)	|+ 83 1,1 ccm
Milchzucker	(0,06 g)	|+ 180% 1,4 ccm H.	(0,06 g)	|+ 100 1,2 ccm
Apicosan Dl = 0,8 ccm/20 g	(20% Dl)	|+ 0% 0,6 ccm H.	(30% Dl)	|+ 0% 0,4 ccm
Forapin Dl = 0,9 ccm/20 g	(20% Dl)	|+ 0% 0,7 ccm H.	(10% Dl)	|+ 0% 0,3 ccm
Crataegus oxyacantha ∅	(0,1 ccm)	|+ 0% 0,65 ccm H.	(0,1 ccm)	|+ 0% 0,45 ccm
	(0,2 ccm)	0,6 ccm H.		
Kalmia latifolia ∅ Dl = 0,1/20 g	(10% Dl)	|+ 0% 0,4 ccm H.	(10% Dl)	|+ 0% 0,8 ccm
	(5% Dl)	0,6 ccm H.		
Quassia ∅	(0,2 ccm)	|+ 0% 0,4 ccm H.	(0,2 ccm)	|+ 0% 0,4 ccm
			(0,5 ccm)	0,4 ccm
Aqua Quassiae	(0,5 ccm)	|+ 0% 0,5 ccm H.	(1,0 ccm)	|+ 0% 0,5 ccm

elle 1.

Gruppe III		Gruppe IV		Gruppe V		Gruppe VI	
0,4—0,6 ccm Harn		0,3—0,45 ccm Harn		0,4—0,5 ccm Harn		0,3—0,5 ccm Harn	
	+ 340 %		+ 325 %		+ 360 %		+ 425 %
5 % Dl)	2,2 ccm H.	(12 % Dl)	1,7 ccm H.	(12 % Dl)	2,3 ccm H.	(12 % Dl)	2,1 ccm H.
		(6 % Dl)	1,5 ccm H.			(6 % Dl)	1,7 ccm H.
			+ 275 %				+ 320 %
	+ 260 %		+ 100 %		+ 100 %		+ 75 %
1 ccm)	1,8 ccm H.	(0,2 ccm)	0,8 ccm H.	(0,2 ccm)	0,85 ccm H.	(0,2 ccm)	0,75 ccm H.
	+ 0 %		+ 120 %				+ 100 %
2 ccm)	0,35 ccm H.	(0,2 ccm)	0,9 ccm H.			(0,2 ccm)	0,8 ccm H.
4 ccm)	0,55 ccm H.					(0,4 ccm)	0,45 ccm H.
							+ 0 %
	+ 0 %		+ 175 %		+ 0 %		+ 175 %
0 % Dl)	0,4 ccm H.	(10 % Dl)	1,1 ccm H.	(5 % Dl)	0,5 ccm H.	(20 % Dl)	1,1 ccm H.
5 % Dl)	0,9 ccm H.			(10 % Dl)	0,4 ccm H.		
	+ 80 %						
	+ 0 %		+ 0 %		+ 0 %		+ 0 %
15 mg)	0,35 ccm H.	(2 mg)	0,3 ccm H.	(8 mg)	0,6 ccm H.	(2 mg)	0,5 ccm H.
mg)	0,4 ccm H.						
	+ 60 %		+ 100 %		+ 100 %		+ 0 %
12 g)	0,8 ccm H.	(0,03 g)	0,85 ccm H.	(0,12 g)	0,9 ccm H.	(0,03 g)	0,5 ccm H.
	+ 100 %		+ 0 %		+ 160 %		+ 0 %
12 g)	1,0 ccm H.	(0,03 g)	0,4 ccm H.	(0,12 g)	1,3 ccm H.	(0,03 g)	0,35 ccm H.
06 g)	0,6 ccm H.						
	+ 0 %						
	+ 0 %		+ 0 %		+ 0 %		+ 0 %
% Dl)	0,4 ccm H.	(10 % Dl)	0,55 ccm H.	(20 % Dl)	0,6 ccm H.	(30 % Dl)	0,45 ccm H.
	+ 0 %		+ 0 %		+ 0 %		+ 0 %
% Dl)	0,6 ccm H.	(30 % Dl)	0,5 ccm H.	(30 % Dl)	0,35 ccm H.	(20 % Dl)	0,45 ccm H.
	+ 0 %		+ 0 %		+ 0 %		+ 0 %
2 ccm)	0,4 ccm H.	(0,05 ccm)	0,4 ccm H.	(0,05 ccm)	0,45 ccm H.	(0,1 ccm)	0,4 ccm H.
	+ 0 %		+ 0 %		+ 0 %		+ 0 %
% Dl)	0,3 ccm H.	(20 % Dl)	0,5 ccm H.	(10 % Dl)	0,5 ccm H.	(5 % Dl)	0,2 ccm H.
	+ 0 %		+ 0 %		+ 0 %		
1 ccm)	0,3 ccm H.	(0,1 ccm)	0,5 ccm H.	(0,5 ccm)	0,6 ccm H.		
	+ 0 %						+ 0 %
ccm)	0,6 ccm H.					(0,5 ccm)	0,5 ccm H.

Tabelle

	Gruppe I		Gruppe II	
		+ 100%		+ 40%
Apocynum cannabin. ∅	(20% Dl)	1,1 ccm H.	(20% Dl)	0,85 ccm
Dl = 0,24 ccm/20 g Tier	(2,5% Dl)	0,7 ccm H.	(2,5% Dl)	0,4 ccm
		+ 40%		+ 0%
Oleander ∅		+ 100%		+ 75%
Dl 0,3 ccm/20 g Tier	(10% Dl)	1,1 ccm H.	(10% Dl)	1,05 ccm

Anm.: Dl = Dosis letalis. ccm H. = ccm Harn.

der Pflanzenheilkunde wird sie unter anderen von H. Schulz[7], E. Meyer[8] und O. Geßner[9] erwähnt; Gnekow[10] hat neuerdings eine Monographie über die Goldrute erscheinen lassen.

Eine experimentelle Prüfung an der Maus liegt von G. Hamel[11] vor. Er hat mit alkoholischen Auszügen keine zweifelsfreien Diuresen erzielt. Seine Untersuchungen mit nicht alkoholischen Auszügen können mit unseren Ergebnissen nicht ohne weiteres verglichen werden. Es fand sich übrigens bei letzteren nur in etwas mehr als einem Viertel der Versuche eine ausgesprochene Diurese, d. h. Zunahme der Harnausscheidung um 100% und mehr; zum Teil wurden Tiere mit einer doch etwas recht hohen Normaldiurese verwendet. Vollmer und Giebel[11a] fanden in orientierenden Versuchen an Ratten mit Herba Solidaginis virgaurea bestenfalls eine geringe Wirkung.

Unsere Befunde ergaben in jedem Falle eine außergewöhnlich hohe Zunahme der Harnausscheidung: bis über 400%. Der niedrigste Wert ist 280% Mehrleistung. Dieses Ergebnis wurde mit 6—25% der tödlichen Menge erzielt, ohne daß eine ausgesprochene Abhängigkeit von der Höhe der Dosis festzustellen wäre. Auch die größeren Mengen führten zu keiner sichtbaren Schädigung der Tiere. Durch Kontrolle der Eiweißausscheidung im Harn ist bekanntlich bei der Maus eine Nierenveränderung nicht nachweisbar. Jedoch ist eine stärkere Nierenschädigung bei den Tieren nicht anzunehmen, da sie während noch monatelanger weiterer Beobachtung keine pathologischen Erscheinungen aufwiesen. Untersuchungen über etwa durch Solidago erzeugte Albuminurien bei der Ratte ließen sich zur Zeit nicht durchführen, da die derzeit erhältlichen Tiere teilweise spontane Eiweißausscheidung (infolge von Skabies?) zeigten.

Demnach ergab sich mit der nach den Vorschriften des homöopathischen Arzneibuches hergestellten Essenz von Solidago eine regelmäßige und außer-

[7] Schulz, H.: ... deutsche Arzneipflanzen, Leipzig 1919. — [8] Meyer, E.: Pflanzliche Therapie, Leipzig 1935. — [9] Geßner, O.: Gift- und Arzneipflanzen, Heidelberg 1931. — [10] Gnekow, R.: Die Goldrute, Monogr. alt. Heilpfl. H. 1. Hamburg 1938. — [11] Hamel, G.: J. D. Hamburg 1939. — [11a] Vollmer, H., u. A. Giebel: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 522 (1938).

ortsetzung)

Gruppe III		Gruppe IV		Gruppe V		Gruppe VI	
	+ 0%		+ 0%		+ 0%		+ 0%
% Dl)	0.5 ccm H.	(10% Dl)	0,4 ccm H.	(5% Dl)	0,25 ccm H.	(5% Dl)	0,4 ccm H.
% Dl)	3 Tiere †	(40% Dl)	2 Tiere †	(20% Dl)	0,85 ccm H.	(20% Dl)	0,9 ccm H.
					+ 70%		+ 100%
					+ 150%		+ 200%
				(20% Dl)	1,1 ccm H.	(20% Dl)	1,2 ccm H.

ordentlich hohe Steigerung der Harnausscheidung. Gleichzeitig konnte auf diese Weise gezeigt werden, daß 1. die diuretisch wirkenden Stoffe in die wässerige Lösung des alkoholfrei gemachten Rückstandes übergingen und 2. alle unsere verwendeten Mäusegruppen bei niedrigen Normalwerten gegen harntreibende Substanzen sehr empfindlich waren.

Erwähnt sei noch, daß wir früher auch Vermehrung der Harnsekretion auf innerliche Darreichung von Solidago-Essenz bei Mäusen gefunden hatten. Diese Versuche mußten aus äußeren Gründen abgebrochen werden.

2. Asparagus.

H. Schulz[7] erwähnt den Spargel als diuretisch wirkende Pflanze. E. Meyer[8] warnt bei Nierenkrankheiten vor seinem Genuß „wegen der starken Nierenreizwirkung". Nach O. Geßner[9] ist der Mechanismus der ärztlicherseits nicht mehr ausgenutzten Wirkung des Spargels nicht bekannt. In der Homöopathie wird Asparagus officinalis wohl nicht gerade häufig verordnet, immerhin wird er von Heinigke[6] gegen Wassersucht empfohlen.

Das Ergebnis unserer Untersuchungen ist nicht einheitlich. Unter 9 Versuchen führten 4 zu einer offensichtlichen Harnvermehrung, 1 Versuch war zweifelhaft (nur 75% Zunahme, während durchschnittlich 100% als Mindestwert von mir angesehen wird). 4 Versuche waren negativ. Die Höhe der Dosis spielt offenbar keine Rolle, wie Gruppe II beweist. Der höchste Wert wurde sogar mit einer kleinen Menge erzielt. Die Ursache der Verschiedenheit konnte nicht festgestellt werden. Daß eine stärkere Nierenschädigung einen Einfluß auf den Ausfall der Versuche gehabt hätte, ist unwahrscheinlich aus ähnlichen Erwägungen, wie sie bereits bei Solidago angestellt wurden.

Es ließ sich also eine gewisse, aber nicht regelmäßige harntreibende Wirkung durch Asparagus nachweisen.

3. Taraxacum.

Der Löwenzahn gilt in der Pflanzenheilkunde als harntreibendes Mittel, er wird als solches bei H. Schulz[7] aufgeführt. Von E. Meyer[8] wird die diuretische Wirkung auf seinen Kaligehalt zurückgeführt, was

von Geßner[9] als fraglich hingestellt wird. In der Homöopathie wird nach dem Schrifttum Taraxacum hauptsächlich als galle- weniger als harntreibendes Mittel verwendet. Von Hahnemann wurde es sogar gegen den starken Harndrang des Diabetikers angegeben (zitiert nach K. Stauffer[5]).

Taraxacum soll in diesem Zusammenhang wegen seines Saponingehalts[12] geprüft werden. Daß eine etwaige diuretische Wirkung auf eine primäre Herzwirkung zurückzuführen sei, ist trotz der von Weger[13] gefundenen fördernden Wirkung am isolierten Froschherz durch Taraxacumextrakt sehr unwahrscheinlich.

Wir fanden nur in 2 von 6 Versuchen eine Diuresezunahme von 100% und mehr, in einem Fall war das Ergebnis zweifelhaft (80%), in den übrigen negativ. Höhere Dosierung führte nicht zu besseren Befunden.

Demnach muß die diuretische Wirkung von Taraxacum als fraglich bezeichnet werden.

4. Saponin und Kaliumchlorid.

Zur Klärung und Analyse der bisherigen Befunde wurde die Einwirkung von Saponin und Kaliumchlorid geprüft.

Die Untersuchungen über Kaliumchlorid sind eine Ergänzung unserer früheren Befunde bei anderen Kalisalzen[4]. Kaliumchlorid wurde in 1‰iger Lösung verwendet. Die tödliche Dosis wurde zu 0,04 g/20 g Tier ermittelt. Die eingespritzten Mengen betrugen 0,15—8,0 mg. Die kleinsten Dosen wurden deshalb geprüft, weil in den Pflanzenextrakten mit recht geringen Mengen zu rechnen ist. Eine Wirkung auf die Diurese war in keinem Falle nachzuweisen. Das Ergebnis stimmt überein mit dem von Kodama[14], der beim Kaninchen, einem allerdings sehr wenig verläßlichen Diuresetier. nur geringe diuretische Wirkung von Kaliumchlorid, -tartrat und -phosphat fand.

Saponin. alb. pur. Merck wurde in einer Lösung von 15 mg auf 12 cm^3 Aq. dest. verwendet. Diese wurde von den Tieren fast schmerzlos und ohne wesentliche Folgen, insbesondere ohne Nekrosen, vertragen. Nach Kofler und Schrutka[15] beträgt die tödliche Dosis für die Maus 1.2 mg/20 g Tier subcutan.

Die Prüfung von Saponin ergab kein einheitliches Ergebnis. Bei 10—20% der tödlichen Dosis wurden Diuresen von 120—175% gefunden, in anderen Fällen fehlte jede Steigerung. Kofler und Mitarbeiter[12] hatten bei Kranken mit gestörtem Wasserhaushalt mit saponinhaltigen Drogen keinen Erfolg. Die Frage, ob Saponine allgemein unter bestimmten Voraussetzungen oder ob bestimmte unter ihnen regelmäßig die Harnausscheidung vermehren, muß also noch unentschieden bleiben. Hildebrandt[16]

---

[12] Kofler, L.: Die Saponine, Wien 1927, S. 16. — [13] Weger, P.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **144**, 261 (1939). — [14] Kodama: Ref. nach Ber. d. Phys. **61**, 151 (1931). — [15] Kofler u. Schrutka: Biochem. Z. **159**, 327 (1925). — [16] Hildebrandt: Münch. med. Wschr. **1936**, S. 1999.

erzielte mit Seifenkraut keine Verstärkung der Harnsekretion bei Ratten, während Kobert[17] bei Menschen und Hunden eine gewisse Vermehrung der Harnmenge nachweisen konnte.

Man kann die bisherigen positiven Ergebnisse bei den untersuchten Essenzen also nicht mit Sicherheit auf deren Gehalt an Saponinen, der übrigens bei der geringen Löslichkeit in höher prozentigem Alkohol (vgl. Kofler[12], S. 42) nicht erheblich sein kann, oder an Kaliumchlorid zurückführen.

5. Apisinum, Milchzucker, Apicosan und Forapin.

Wenn man Apis nach dem homöopathischen Gesichtspunkte des Similesatzes bei Wassersucht empfiehlt, wie das wohl von Clotar Müller[18], Stauffer[19], Jousset[20] (Ascites) u. a. geschieht, so kann man sich nur auf einen ziemlich vagen Analogieschluß stützen; denn das Ödem des Bienenstichs ist entzündlicher Natur. Unabhängig von diesen Erwägungen wird aber im Schrifttum angegeben, daß Bienengift die Harnausscheidung fördere[21].

Es wurde daher von uns auch Apisinum geprüft, das aus der Giftblase gewonnene Bienengift, von dem als niedrigste Potenz D_2 als Verreibung mit Milchzucker im Handel ist. Die Höhe der verwendeten Dosen war dadurch beschränkt, daß Milchzucker nur bis 1,0 g in 3,2 cm^3 Wasser löslich ist. Eine Dosis letalis wurde wegen der miteinzuspritzenden hohen Milchzuckermenge nicht festgelegt. Bei den 6 Versuchen wurde in 3 Fällen eine deutliche Harnvermehrung (100 bis 260%) erzielt, in zwei weiteren war eine schwache Diurese festzustellen. Wenn nun aber nach etwa einer Woche die gleichen Tiere mit der gleichen Menge gewöhnlichen Milchzuckers gespritzt wurden, so war das Ergebnis fast das gleiche, d. h. also: die mit Apisinum erzeugte Diurese ist wohl auf die gleichzeitig einverleibte Laktose zurückzuführen. Diese macht also auch bei der Maus, subcutan gegeben, eine allerdings nicht erhebliche und nicht regelmäßige Zuckerdiurese (vgl. dazu Ellinger[22]).

Zur weiteren Klärung der Frage über eine etwaige harntreibende Wirkung des Bienengiftes wurden zwei im Handel erhältliche Präparate dieser Art geprüft: Apicosan und Forapin. Das Ergebnis ist aus der Tabelle zu ersehen, es war völlig negativ. Somit sind die erhöhten Harnwerte nach Apisinum D_2 lediglich dessen Milchzuckergehalt zuzuschreiben.

Aus den Untersuchungen mit Forapin seien einige Einzelheiten mitgeteilt. Dieses Präparat hat einen Zusatz von 0,2% Novocain Bayer. Es erschien denkbar, daß eine etwaige diuretische Wirkung des Bienengiftes durch eine antidiuretische Wirkung des Novocains überdeckt sein könnte.

[17] Kobert, R.: Heffters Handb. II, 2, S. 1509 (1924). — [18] Müller, Clotar: Charakteristik der wichtigsten homöopathischen Heilmittel. Leipzig 1935. — [19] Stauffer, H.: Homöotherapie, Regensburg 1927. — [20] Joussets Leitfaden der Homöotherapie, Radeburg 1929. — [21] Flury, F.: Naturwiss. **1923**, S. 347. — [22] Ellinger in Bethe-Bergmann, Handb. Physiol., Bd. IV (1929), S. 403.

Diese letztere ist ja von anderen Narkoticis her bekannt[23]. Es wurde daher in der früher mitgeteilten Weise[24] an zwei Gruppen wasserbelasteter Tiere geprüft. Das Ergebnis folgt aus Tabelle 2.

Tabelle 2.

Mit 2,0 ccm 0,3%iger Kochsalzlösung ip. wasserbelastete Tiere	Gruppe IV	Gruppe V
Normalausscheidung in 4 Stunden	5,2 ccm Harn 5,0 ccm Harn	3,9 ccm Harn 3,5 ccm Harn
Nach Novocain „Bayer“.....	(0,0003 g/20 g)	(0,0006 g/20 g)
Dl = 0,01 g/20 g	**5,5** ccm Harn	**3,9** ccm Harn

Novocain macht daher keine Diuresehemmung.

Die Dosis letalis dürfte für Forapin durch den Novocainzusatz kaum beeinflußt sein. Wir fanden nämlich als tödliche Dosis für Novocain bei der Maus 0,6 g/kg Tier. Fromherz[25] gibt 0.6—0.7 g/kg Maus bei subcutaner Injektion an.

Es wurde demnach kein Anhalt dafür gefunden, daß Bienengift diuretisch wirkt.

6. Crataegus oxyacantha.

Der Weißdorn wird als Herzmittel angewendet. Nach Ritter[26] soll er sich besonders bei den Beschwerden des Altersherzens bewährt haben. Die naturwissenschaftliche Richtung der Homöopathie erwartet von der Droge im allgemeinen keine diuretische Wirkung (Donner, mündliche Mitteilung), allerdings führt Schoeler[27] Oligurie im Arzneibild auf und Aßmann[28] berichtet über Beseitigung von wassersüchtigen Anschwellungen der unteren Körperhälfte. Auch nach E. Meyer[8] soll Crataegus Ödeme zum Schwinden bringen, während Seel[29] beim ödematösen Menschen mit Weißdorn allein die Diurese in der Regel nicht in Gang bringen konnte.

In unseren Versuchen fand sich keine Vermehrung der Harnausscheidung. An der Ratte kam Hildebrandt zu einem ähnlichen Ergebnis[16].

7. Kalmia latifolia.

Der amerikanische Berglorbeer spielt in der Homöopathie als Herzmittel eine besondere Rolle. Von Stiegele[30] wird die Droge in erster Linie bei den akuten Erscheinungen des Rheumatikerherzens, neuerdings[31]

---

[23] Bonsmann, M. R.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **161**, 76 (1931). — [24] Bonsmann u. Brakhage: Ebenda **174**, 453 (1934). — [25] Fromherz: Ebenda **158**, 368 (1930). — [26] Ritter: Hippokrates **1935**, H. 6, S. 219. — [27] Schoeler, H.: Kompendium der wiss. u. prakt. Homöopathie, Leipzig 1940. — [28] Aßmann: D. Z. Homöop. **1930**, S. 304. — [29] Seel: Hippokrates **1938**, H. 1. — [30] Stiegele, A.: Allg. homöop. Ztg. **157**, 117 (1909). — [31] Stiegele-Ritter: Klinische Homöopathie, Stuttgart 1941, S. 289.

auch bei der Frühinsuffizienz empfohlen; auch Loben[32] äußert sich über seine Verwendung bei Herzkrankheiten günstig. Heinigke[6] gibt als Indikation Erkrankungen des Herzklappenapparates mit „sekundären Anomalien der Harnabsonderung" an. Die Untersuchungen amerikanischer Pharmakologen[33, 34] über diese und ihr nahestehende Drogen haben nicht zu abschließenden Ergebnissen geführt. Die Einwirkung auf den Parasympathicus erscheint zweifelhaft, der Einfluß auf die Harnausscheidung wurde von Waud nicht geprüft.

Man hat das Mittel zweifellos zu den stark wirkenden zu rechnen; sogar der Honig aus der Pflanze gilt als giftig (Wehmer[35]). Die tödliche Dosis für die Maus betrug 0,1 ccm/20 g Tier († unter primärer Atemlähmung). Es erscheint daher angebracht, davor zu warnen, daß beim Kranken niedrigere Potenzen (d. h. größere Dosen) als D_3 gegeben werden.

Unsere Prüfungen mit 5—20% der tödlichen Dosis von Kalmia hatten keinen diuretischen Effekt.

8. Quassia

wurde untersucht, weil es in dem Rufe steht, den Ascites der Lebercirrhose beseitigen zu können (Stiegele-Ritter[31]). In diesem Sinne wurde von Rademacher[4a] (S. 131) vorwiegend Aqua Quassiae, aber auch ein „geistiges Wasser" verwendet, weshalb von uns neben der Aqua, die offenbar einen recht schwachen Auszug darstellt, die nach den Vorschriften des homöopathischen Arzneibuches bereitete Urtinktur, in der Weise, wie eingangs angegeben, angewandt wurde.

Es ist bekannt, daß der durch Leberveränderungen verursachte Ascites so gut wie nie auf Diuretica reagiert. Gleichwohl führten wir die experimentelle Prüfung auf harntreibende Wirkungen durch, weil wir bei Untersuchungen der choleretischen Wirkung von Quassia an der Ratte mit Gallen- und Blasenfistel zu nicht ganz klaren Ergebnissen bezüglich der Diurese gekommen waren. Auch ist eine Steigerung der Herztätigkeit, wenn auch nur am isolierten Froschherz, durch das Bitterholz beschrieben[13].

Unsere Untersuchungen sowohl mit Quassia ∅ wie mit Aqua Quassiae fielen negativ aus.

Die auch bei Lebercirrhose empfohlene Aqua nuc. vomicar. Rademacheri war zur Zeit nicht erhältlich.

9. Apocynum cannabinum.

Auf der Suche nach stärker harntreibend wirkenden Drogen wurde auch der kanadische Hanf, der in der Homöopathie der „vegetabilische Trokar" genannt wird (Madaus[36]) und dessen Leitsymptom nach Rabe[36a] „Wassersucht überall" ist, untersucht. Die tödliche Dosis für die alkoholfrei gemachte Urtinktur betrug 0,24 ccm/20 g Maus. Es wurden 2,5—40% der tödlichen Dosis geprüft. Bei 20% der Dl wurde in 2 von

[32] Loben, F.: Hippokrates **1935**, S. 412. — [33] Waud: J. Pharmacol. (Am.) **69**, 103 (1940). — [34] Hardikar: Zit. bei Waud. — [35] Wehmer: Pflanzenstoffe, Jena 1931. — [36] Madaus, G.: Lehrbuch d. biol. Heilmittel I, Heilpflanzen. Leipzig 1938. — [36a] Rabe, H.: D. Z. Homöop. **1930**, S. 113.

4 Fällen eine Diuresezunahme von 100% des Ausgangswertes, in den beiden übrigen nur eine unsichere Vermehrung des Harnwertes festgestellt. Bei 40% der letalen Menge erfolgte in Gruppe III der Tod von 3, in Gruppe IV der Tod von 2 Tieren. Die Streuung der Werte für die tödliche Dosis scheint demnach bei Apocynum erheblich zu sein. Daß diese Droge leicht toxische Erscheinungen verursacht, ist auch aus der Klinik bekannt. Ich habe über das aus der Pflanze gewonnene, jetzt nicht mehr klinisch angewandte, kristallisierte Glykosid Cymarin, sowohl bezüglich der etwas unsicheren harnvermehrenden Wirkung wie auch der zu befürchtenden Nebenerscheinungen mehrfach berichtet[37, 38]. Die Schoelersche[39] Mitteilung vom Auftreten von Ödemen bei der Arzneimittelprüfung am Gesunden spricht ebenfalls in diesem Sinne.

So war denn eine, allerdings unzuverlässige Diurese mit Apocynum zu erreichen, aber nur mit Dosen, die nahe an die toxischen herankamen.

10. Oleander.

Es seien noch einige Versuche über Oleander angefügt, die aber noch nicht als abgeschlossen zu betrachten sind. Sie wurden unterbrochen durch die erwähnten Todesfälle bei Apocynum, die zu einem Abschluß der ganzen vorliegenden Versuchsserie zwangen.

Mit 10—20% der tödlichen Dosis, die 0,3 cm^3/20 g Tier betrug, wurde demnach fast regelmäßig eine, wenn auch nicht erhebliche Diurese erzielt.

Zusammenfassung.

1. Die nach den Vorschriften des Homöopathischen Arzneibuches hergestellten Essenzen bzw. Tinkturen einer Reihe von Drogen wurden auf ihre diuretische Wirksamkeit bei der Maus nach subcutaner Injektion untersucht: Bei Solidago erfolgte in jedem Fall eine Steigerung der Diurese von 280—425% über den Ausgangswert, bei Oleander war diese auch fast stets zu beobachten, aber nicht so hoch, bei Asparagus und Taraxacum war sie unregelmäßig, bei Apocynum unsicher und erst mit Dosen nahe der toxischen Grenze erreichbar. Mit Crataegus oxyacantha, Kalmia latifolia und Quassia war keine Harnvermehrung zu erzielen.

2. Die subcutane Einverleibung von Kaliumchlorid und Saponin. alb. pur. Merck führte zu keiner Erhöhung der Wasserausscheidung im Harn.

3. Eine auf Verabreichung von Apisinum erzielte verstärkte Urinsekretion war auf den zur Verreibung des Bienengiftes verwendeten Milchzucker zurückzuführen, der demnach bei der Maus, subcutan verabreicht, eine allerdings mäßige und unzuverlässige Diurese macht. Mit Apicosan und Forapin war keine vermehrte Harnausscheidung festzustellen.

4. Novocain verursacht in 3—6% der tödlichen Dosis keine Diuresehemmung.

[37] Bonsmann: D. med. Wschr. **1914**, Nr. 1. — [38] Bonsmann: Med. Klin. **1921**, Nr. 50. — [39] Schoeler, H.: Allg. homöop. Ztg. **1937**, S. 217.

Aus dem Institut für Pharmakologie und Pharmakognosie der Slowakischen Universität in Bratislava-Preßburg, Slowakei.
(Vorstand: Prof. Dr. Franz Švec.)

Die enterale Wirkung von Digitoxin und ein Beitrag zu seiner Kumulation.

Von

F. Švec und A. Hasík.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 19. Februar 1942.)

In einer Serie der vorherigen Mitteilungen beschäftigte sich einer von uns mit der systematischen Forschung über die Wirkung der Digitalissubstanzen per os. Es wurde die Zerstörbarkeit der Digitalissubstanzen im Magensaft und der Einfluß der einzelnen Bestandteile des Magensaftes auf diese Zerstörung erforscht[1]. In einer weiteren Mitteilung wurde die Wirkung der Digitalis auf die Salzsäuresekretion des Magens geprüft[2]. Für die praktische Verwendung ist auch die Zerstörbarkeit und die Resorption dieser Substanzen im Darmkanal von einer großen Wichtigkeit. Wir haben uns die Aufgabe gestellt, diesem Problem experimentell nachzuforschen. In einer großen Zahl von Versuchen wurde bereits die enterale Zerstörbarkeit und Resorption von g-Strophanthin und Digilanid geprüft[3, 4], es wurde auch der Wirkungskoeffizient enteral/intravenös für beide Stoffe bestimmt.

Wir befassen uns zur Zeit mit dem Einfluß der Galle auf die Resorption der Digitalis. Zu diesen Versuchen wurde als Digitalisstoff Digitoxin gewählt, da diese Substanz im Darmkanal am resistentesten ist. Es hat sich daher als notwendig erwiesen, zuerst die Zerstörbarkeit des Digitoxins im enteralen Trakt zu prüfen, besonders weil die bisherigen Ergebnisse nicht eindeutig sind. Wir wollen auch in dieser Arbeit einen Beitrag zum Problem der Digitaliskumulation bringen.

Die Versuche wurden an gesunden und erwachsenen Katzen im Gewicht 1,8—4.0 kg durchgeführt. Die Versuchstiere wurden vor dem Versuch einige Tage zwecks Gewöhnung im Institut gehalten. Die Tiere wurden hygienisch gepflegt und gut genährt.

In der ersten Serie der Versuche wurde die kleinste tödliche Dosis mit der bekannten Magnus-Hatcher-Infusionsmethode bestimmt. Wir haben eine Infusionsgeschwindigkeit von 0,5 mg/kg/45 Minuten bei einer Verdünnung von 1 : 40000 mit 3,75 % Alkoholgehalt verwendet.

---

[1] Švec, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **185**, 57 (1937). — [2] Švec, F.: Ebenda **189**, 600 (1938). — [3] Švec, F.: Ebenda **192**, 18 (1939). — [4] Švec, F.: Ebenda **179**, 157 (1935).

Tabelle 1. Dos. let. Digitoxin nach Magnus-Hatcher. Inf. 0,5 mg/kg/45 Min.

Versuch Nr.	Katze Gewicht in g	Infusionsdauer in Min.	Verbrauch in mg	Dosis in mg/kg
1	1540	40	0,6875	0,446
2	2700	41	1,2250	0,453
3	2650	38	1,0900	0,411
4	3055	49	1,5175	0,496
5	3135	40	1,3950	0,444
6	3140	41	1,4375	0,457
7		Mittel: 41,30		Mittel: 0,451

Die Dos. let. min. von gut übereinstimmenden Versuchen beträgt 0.451 mg kg. Andere Autoren haben ähnliche Werte gefunden: z. B. Rothlin[5] 0,420 mg/kg, Fromherz und Welsch[6] 0,410 mg/kg, Bauer und Fromherz[7] 0,403 mg/kg, Weese und Dieckhoff[8] 0,380 mg/kg usw.

Wie schon mehrmals bestätigt wurde, ist die Dos. let. min. nach Magnus-Hatcher nicht die wirkliche kleinste tödliche Dosis. Auch kleinere Mengen wirken tödlich, allerdings nach Ablauf einer längeren Zeitdauer.

Bei der Bestimmung der enteralen Toxizität macht der Umstand große Schwierigkeiten, daß es keine solche intravenöse tödliche Menge gibt, welche wir zum Vergleich der enteralen tödlichen Dosis heranziehen könnten. Am geeignetsten wäre eine intravenöse Infusion von ähnlicher Geschwindigkeit, mit welcher sich die geprüfte Digitalissubstanz aus dem Darmkanal resorbiert. Da man diese Forderung nicht erfüllen kann, bestimmen wir den Wirkungskoeffizienten enteral/intravenös am besten so, daß wir die enteral tödliche Dosis mit der kleinsten intravenösen Dosis vergleichen, die in zeitlich unbegrenzter Wirkungsdauer tötet. Es wurde daher die Dos. let. min. zeitlos in einer großen Serie von Versuchen bestimmt.

Im Ätherrausch wurde in die Vena femoralis ganz langsam innerhalb von 3 Minuten Digitoxin in einer Verdünnung von 1 : 10000 für 1 mg Digitoxin 1 ccm Alkohol steril injiziert. Die Versuchstiere wurden vor wie auch nach der Injektion gut gefüttert. Die Nahrung bestand aus Milch, rohem Fleisch (hauptsächlich Nieren, Leber, Milz) und verschiedenen frischen Speiseresten aus der Krankenhausküche.

Aus eigenen Erfahrungen wissen wir, daß sich die Versuchstiere von der Digitalisvergiftung um so schneller erholen, je früher sie Freßlust bekommen. Um die Freßlust zu steigern, haben wir die Versuchstiere vor und nach der Injektion oft mit lebenden Mäusen gefüttert. Die Versuchstiere wurden warm und hygienisch gehalten. Wir haben zweimal täglich 20 ccm physiologische Kochsalzlösung mit 10% Glucose subcutan

[5] Rothlin, E.: Helvet. med. Acta **1**, 460 (1934). — [6] Fromherz, K., u. A. Welsch: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **161**, 266 (1931). — [7] Bauer, H., u. K. Fromherz: Ebenda **172**, 693 (1933). — [8] Wesse, H., u. J. Dieckhoff: Ebenda **176**, 274 (1934).

bis zur Erholung injiziert. Es wurde großer Wert darauf gelegt, daß die Tiere in Ruhe und vor Anstrengung bewahrt gehalten werden.

Der Verlauf der Vergiftung war bei den Tieren verschieden. Alle bekamen Speichelfluß, der bei manchen Tieren erst am 3.—4. Tage aufhörte. In den ersten Stunden der Vergiftung erbrachen alle Tiere. Der Brechreiz dauerte 1—2 Tage. Schon in den ersten 24 Stunden entwickelten sich die Erscheinungen einer schweren Vergiftung. Die größte Zahl der Tiere lag kraftlos und apathisch. Manche waren unruhig und taumelten, hauptsächlich in den ersten Tagen nach der Injektion. Bei 2 Tieren haben wir, nachdem sie 70% der Magnus-Hatcher-Dosis bekamen, Krämpfe beobachtet: beide Tiere starben. Am 3. oder 4. Tage trat Besserung ein, sie fingen an zu fressen (entweder rohes Fleisch ins Maul gelegt oder lebende Mäuse) und erholten sich rasch. Die tödliche Wirkung trat bei der Mehrzahl der Versuchstiere innerhalb der ersten 24 Stunden, spätestens am 3. oder 4. Tage nach der Injektion ein. Bei vereinzelten Tieren, die nach 1 Woche oder später starben, wurde eine interkurrente Infektion gefunden.

Tabelle 2. Dos. let. min. Zeitlos und Kumulation von Digitoxin.

Versuch Nr.	Katze Gewicht in g	Injektion der Magnus-Hatcher Dosis	Lebend bzw. tot nach	Auffüllung nach Tagen	Ende Gewicht in g	Letale Zudosierung von Digitoxin		Rest-schädigung
						mg/kg	% der Dos. let. min.	
47	3404	40	lebend	21	3062	0,495	109,8	0
48	2143	40	„	21	2210	0,460	102,1	0
49	2900	40	„	21	2680	0,412	91,4	8,6
50	4044	45	„	21	3880	0,390	89,5	10,5
51	4120	50	„	10	3970	0,463	102,2	0
52	2716	50	„	7	2608	0,318	70,5	29,5
53	3436	50	„	7	3455	0,303	67,2	32,8
54	2715	50	„	14	2789	0,414	91,9	8,1
56	3350	50	„	21	3585	0,434	96,2	3,8
57	3117	50	† Getötet 9 Tagen	—	—		—	—
60	1785	60	lebend	21	1980	0,438	97,1	2,9
61	2330	60	„	21	2370	0,418	92,6	7,4
62	2070	60	„	21	2380	0,464	102,8	0
63	2820	60	„	21	2300	0,385	85,5	14,5
64	2370	60	„	21	2465	0,378	84,9	16,0
65	2760	60	Gravidität	21	2610	0,305	67,5	32,5
66	2670	70	† Getötet 2 Tagen	—	—	—	—	—
67	2050	70	† 2 Std.	—	—			—
69	2780	70	† 2 Std.	—	—	—	—	—
70	2850	70	† 15 Min.	—	—	—	—	—
71	4200	70	† 3 Std.	—	—	—	—	—
80	2115	70	† 10 Std.	—	—	—	—	—

Aus der Tabelle 2 geht hervor, daß 70% der Magnus-Hatcher-Dosis bei allen Versuchstieren tödlich wirkt. Die Dos. let. min. zeitlos enthält also 0,315 mg/kg Digitoxin. Es ist sehr bemerkenswert, wie genau die

Versuche ausfielen. Aus der Tabelle entnehmen wird. daß alle Versuchstiere 40 bis 60 % der Magnus-Hatcher-Dosis, d. h. 0.270 mg/kg Digitoxin überlebt haben. Ein Tier ist nach 60 % in 4 Stunden eingegangen (der Versuch ist nicht auf der Tabelle angegeben), bei diesem Versuchstier wurden an der Leber drei Geschwülste mit Zysten gefunden. Die gefundene Dos. let. min. zeitlos stimmt vollkommen mit den Angaben von Rothlin[5] überein. Fromherz und Welsch[6] sowie Weese und Dieckhoff[8] fanden hingegen, daß die Dos. let. min. zeitlos 50 % der Magnus-Hatcher-Dosis beträgt. In den Versuchen der letztgenannten Autoren überlebte kein Versuchstier eine Menge von 0,200 mg/kg Digitoxin.

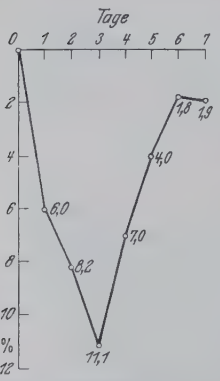


Abb. 1. Gewichtsverlauf von 13 Versuchstieren aus der Tabelle 2.

Mit diesen Versuchen haben wir nicht nur die für die Ermittlung der enteralen Toxizität notwendige Dos. let. min. zeitlos bestimmt, sondern die Versuchstiere, bei denen das Digitoxin nicht tödlich wirkte, wurden zur weiteren Forschung in der Frage der Entstehung der toxischen Digitaliskumulation verwendet. In der Rubrik 5—8 sind die mit diesem Problem zusammenhängenden Zahlen angegeben. Nach einer bestimmten Zeit nach der Injektion von Digitoxin wurde mit Hilfe der Auffüllmethode die tödliche Zusatzdosis bestimmt. Es wurde Digitoxin in derselben Verdünnung, wie in der ersten Versuchsserie und mit derselben Methode infundiert. Wir haben uns bemüht, die Versuchstiere bestens zu ernähren und haben erzielt, daß sich ihr Gewicht nach der Vergiftung ziemlich rasch dem Anfangsgewicht näherte.

Die Abb. 1 veranschaulicht die Gewichtsabnahme von 13 Versuchstieren aus der Tabelle 2, bei denen die Digitoxininjektion nicht tödlich wirkte. Der größte durchschnittliche Gewichtsverlust trat am 4. Tage nach der Injektion ein. Von diesem Tage an hat sich das durchschnittliche Gewicht rasch erhöht, so daß nach 7 Tagen nur noch eine Gewichtsabnahme von 1,87 % zu verzeichnen war. Der Versuch Nr. 63 bildet eine Ausnahme und wurde zur Berechnung des durchschnittlichen prozentualen Gewichtsverlustes nicht verwendet. Dieses Versuchstier hat nämlich nach der Injektion 19,2 % abgenommen. Der Gewichtsverlust hat sich bis zum 21. Tage nicht verändert. obwohl das Tier gut gefressen und sich erholt hat und keine Symptome irgendeiner Erkrankung zeigte.

Die Zusatzdosen wurden auf das Endgewicht berechnet. Wir haben bei der Zusatzdosierung praktisch die Anfangsgewichte der Katzen erreicht. Die durchschnittliche Gewichtsabnahme, außer dem Versuch Nr. 63, beträgt bei allen Tieren nur noch 0,3 %. In zwei Versuchen wurde die Zusatzdosis nach 7 Tagen bestimmt, beide Versuchstiere bekamen 50 % der Magnus-Hatcher-Dosis. Bei dem Tiere Nr. 52 beträgt der Gewichts-

verlust nur noch 4 %. Das Tier verbrauchte 0,318 mg/kg Digitoxin, zeigte also eine Restschädigung von 29,5 %. Im Versuch Nr. 53 erreichte das Tier wieder das normale Gewicht und obgleich es keine toxische Erscheinung zeigte, wurde dennoch eine Restschädigung von 32,8 % gefunden. Diese Befunde zeigen, daß die Katzen gegen eine neue Zufuhr von Digitoxin 1 Woche nach der Vergiftung überempfindlich sind.

In 10 Tagen wurde die Katze Nr. 51 aufgefüllt. Bei einem fast normalen Gewicht (es fehlte nur noch 3,60 %) haben wir keine Restschädigung gefunden. Der Titrationswert war auch im Versuch Nr. 54 normal. Bei dieser Katze wurde die Zusatzdosis nach 14 Tagen bestimmt. Bei allen übrigen Versuchstieren wurde die Zusatzdosis nach 21 Tagen bestimmt. Die Katze Nr. 65 war schwanger und deshalb war auch der Titrationswert niedriger. Im Versuch Nr. 63 und 64 ist eine verhältnismäßig kleine Restschädigung zu verzeichnen. Die gefundenen Titrationswerte liegen knapp außer der Versuchsbreite der normalen Hatcher-Dosen. Das Tier Nr. 64 hatte einen ungewöhnlich dicken Fettpolster und dieser Umstand erklärte vielleicht den verminderten Digitoxinverbrauch. Bei allen übrigen Versuchstieren haben wir normale Titrationswerte gefunden. Die durchschnittliche Abweichung von der normalen Magnus-Hatcher-Dosis aller nach 21 Tagen aufgefüllten Katzen beträgt 4,61 %.

Von der dritten Versuchsserie, die in der Tabelle 3 angegeben ist, wurde zwecks Kontrolle der Titrationswert bei 5 Tieren nach 21 Tagen bestimmt. Diese Tiere bekamen eine subletale Digitoxininjektion intraduodenal. Sämtliche Tiere zeigten keine Restschädigung. Aus allen diesen Versuchen geht hervor, daß die Katzen nach einer subletalen Digitoxindosis spätestens 21 Tage nach der Injektion ganz normal auf weitere Zufuhr von Digitoxin reagieren.

Nach diesem einheitlichen Ergebnis erwies sich als notwendig, das Myokard von einigen Katzen histologisch zu untersuchen. Der Herr Dozent Klein war so liebenswürdig, die Herzen der Katzen Nr. 52, 60, 61, 62, 63, 69 histologisch zu untersuchen. Zwecks Kontrolle hat er auch den Herzmuskel von einer gesunden Katze, die durch Luftembolie getötet wurde, untersucht. In den Herzen der angeführten Katzen wurden weder die von Büchner[9], Weese und Dieckhoff[8] beschriebenen nekrotischen Veränderungen noch eine fettige Degeneration gefunden. Nachdem wir bei unseren Tieren vom 10. Tage an volle Zusatzdosen gefunden haben, war der normale histologische Befund für uns keine Überraschung und bestätigte nur die Befunde von Bauer[10], daß nämlich die Herzen jener Versuchstiere, welche volle Zusatzdosen brauchen, frei sind von anatomischen Veränderungen.

[9] Büchner, T.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **176**, 59 (1934). — [10] Bauer, H.: Ebenda **172**, 699 (1933).

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Die kumulative Digitaliswirkung beruht nicht, wie früher angenommen wurde, auf einer Anreicherung der Substanz, sondern vielmehr wie durch Bauer und Fromherz[7] Büchner[9], Bauer[11], Weese und Dieckhoff[8], Lindner[12,13], Hahn[14], Lendle[15] mehrfach bestätigt wurde, auf sekundären Vorgängen mit anatomischen Veränderungen. Die morphologischen Schädigungen des Herzmuskels wurden nicht nur bei wiederholten kleinen Mengen mit einer überadditiven Wirkung, sondern auch bei einmaliger großer Dosis beobachtet. Bauer und Fromherz geben an, daß sich diese Veränderungen auch mehrere Tage nach der Vergiftung entwickeln und den Tod der Versuchstiere verursachen können, manchmal erst nach Ablauf von 14 Tagen, nachdem eine praktisch volle Erholung eingetreten ist. Bauer hat in umfangreichen Versuchen die Herzschädigung nach einer einmaligen subletalen Dosis mit Hilfe der Auffüllmethode bestimmt. Er hat festgestellt, daß die Zusatzdosen nicht einheitlich sind. Bei manchen Tieren haben schon verhältnismäßig kleine Zusatzdosen zum Tode geführt, gleichgültig an welchem Tage nach der Vergiftung die Katzen aufgefüllt wurden. Andere Versuchstiere verbrauchen nach derselben Digitoxinmenge volle Zusatzdosen.

Die Streuung der Zusatzdosen versucht Bauer durch individuelle Überempfindlichkeit gegenüber den Digitalissubstanzen zu erklären. Bei den Tieren mit großen Zusatzdosen wurden keine anatomischen Veränderungen festgestellt. Bauer betont, daß die Neigung zur Nekrosebildung bei einmaliger Dosis geringer ist als bei wiederholten Gaben. Bauer und Reindel[16,17] haben bei zahlreichen Katzenversuchen die Herztätigkeit nach einer subletalen Digitoxindosis 0,17 mg/kg elektrocardiographisch verfolgt. Sie haben Vergiftungen mit starker Anfangswirkung und progredientem Verlauf beobachtet. Bei anderen Tieren wurde ein wechselnder Vergiftungsverlauf festgestellt. Die Digitoxinwirkung in den ersten 24 Stunden haben die genannten Autoren als primär oder direkte Wirkung bezeichnet. Dann folgt ein 2—4 Tage dauerndes Latenzstadium, in dem eine vollkommene Erholung der Tiere möglich ist. Die dritte Phase der Wirkung ist das Sekundärstadium, in dem sich morphologische Veränderungen am Herzmuskel entwickeln.

Unsere Versuchsergebnisse zeigen, daß die Größe der Zusatzdosis in erster Linie von der Größe des Zeitfaktors abhängig ist. Während Bauer seine Versuchstiere einmal nach 24 Stunden, ein andermal nach Ablauf von 2, 3, 7 und 14 Tagen auffüllt, wurde in unseren Versuchen die Zusatzdosis am frühesten am 7. Tage nach der Vergiftung bestimmt. Bei der

[11] Bauer, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **176**, 65 (1934). — [12] Lindner, W.: Ebenda **192**, 155 (1939). — [13] Lindner, W.: Ebenda **192**, 169 (1939). — [14] Hahn, F.: Ebenda **192**, 499 (1939). — [15] Lendle, L.: Ebenda **194**, 493 (1940). — [16] Bauer, H., u. H. Reindell: Ebenda **190**, 461 (1938). — [17] Bauer, H., u. H. Reindell: Ebenda **191**, 311 (1939).

Nachtitration ist es von großer Wichtigkeit, auf welches Gewicht die letale Dosis berechnet werden soll, auf das Anfangs- oder Endgewicht. Es ist begründet, wenn wir die Auffülldosen auf das Endgewicht berechnen. Wir haben die Titration erst dann, nachdem die Versuchstiere ihr Anfangsgewicht wieder erreicht haben, durchgeführt. Die Größe des Gewichtsverlustes hängt von der Schwere der Vergiftung ab. In den ersten Tagen der Vergiftung ist die Streuung der Zusatzdosen bei dem niedrigsten Gewicht am größten, da in diesem Stadium die Symptome am schwersten sind und die Versuchstiere auf eine neue Zufuhr von Digitoxin individuell reagieren. Gegen die Digitalistitration sind auch die Katzen, die durch andere Gifte geschädigt wurden, überempfindlich. So haben z. B. Heubner und Hecht[18] nach Verabreichung von Phosphor, Dieckhoff und Schulze[19] nach Diphtherietoxin, Dieckhoff[20], Hilbing[21] nach Thyroxin eine Verminderung des Titrationswertes festgestellt. Die verschiedene Empfindlichkeit am Anfang der Vergiftung bestätigt auch die Versuchsserie aus der Tabelle 4. Wir prüften in diesen Versuchen den Prozentsatz aus einerM-H.-Dosis von Digitoxin, der innerhalb 6 Stunden aus dem Darmkanal resorbiert wurde. Die Zusatzdosen sind sehr verschieden. 4 Tiere starben spontan innerhalb 6 Stunden, weitere 4 Katzen am Anfang der Narkose noch vor der Titration. In den übrigen 9 Versuchen fanden wir ganz verschiedene Zusatzdosen bis 75 % der Magnus-Hatcher-Dosis.

Die erhöhte Empfindlichkeit besteht noch am 7. Tage nach der Vergiftung. Wir haben noch 30 % Restschädigung festgestellt. Vom 10. Tage an wurden volle Zusatzdosen gefunden. Innerhalb 3 Wochen sind die Versuchstiere vollkommen erholt, sie verbrauchten bei der Titration normale Magnus-Hatcher-Dosen und zeigten daher keine Restschädigung.

Der negative histologische Befund im Herzmuskel bestätigt die Restitutio ad integrum. Wir sehen also, daß die individuelle Empfindlichkeit nach einer großen subletalen Digitoxinmenge am Anfang und in den ersten Tagen nach der Vergiftung am größten ist. Sie sinkt dann mit der Zeit allmählich ab, wahrscheinlich im gleichen Maße, wie sich die reversiblen Veränderungen des Herzens zurückbilden. Wir haben in den letzten Jahren sehr viele Digitalisversuche an Katzen durchgeführt, aber bis jetzt haben wir keine besonderen individuellen Empfindlichkeiten bei gesunden Katzen gegenüber den Digitalissubstanzen beobachtet. Nicht nur die Magnus-Hatcher-Titrationswerte stimmen in Fehlergrenzen von — — 10 % überein, auch die Dos. let. min. zeitlos ist eindeutig, wenn die Tiere hygienisch gut gepflegt und womöglich in größter Ruhe gehalten werden.

---

[18] Heubner, W., u. Hecht: Nachr. Ges. Wiss. Göttingen, Math.-phys. Kl. **1926**, S. 220. — [19] Dieckhoff, J., u. E. Schulze: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **183**, 561 (1936). — [20] Dieckhoff, J.: Ebenda **182**, 293 (1936). — [21] Hilbing, R.: Ebenda **196**, 310 (1940).

Nun ist es fraglich, ob es überhaupt zweckmäßig ist, nach einer subletalen Digitoxinmenge über Kumulation zu sprechen. Eine Digitoxindosis, falls sie nicht so groß ist, daß sie tödlich wirkt, verursacht reversible Veränderungen, die sich spätestens nach 3 Wochen zurückbilden. Nach Ablauf dieser Zeit sind die Versuchstiere gesund, ohne irgendwelche anatomische Veränderungen und reagieren auf neue Digitaliszufuhr wie die übrigen normalen Tiere. Ganz anders liegen die Verhältnisse bei der Wirkung von kleinen wiederholten Mengen. Diese wirken überadditiv und führen zu toxischer Kumulation. Die Kumulationsgröße hängt dann nicht nur von der gegebenen Gesamtmenge, sondern auch von der Einzeldosis und von den zeitlichen Abständen zwischen den einzelnen Verabfolgungen ab.

Die enterale Wirkung.

Über die enterale Toxizität von Digitoxin finden wir einige widersprechende Angaben in der Literatur. Issekutz[22] fand z. B., daß von Digitoxin die doppelte der intravenösen Dosis tödlich wirkt. Redonnet-Alday[23] stellte fest, daß der Wirkungskoeffizient per os/intravenös für Digitoxin bei der Katze 1,7 beträgt. Raymond-Hamet[24] beobachtete bei Hunden keinen Unterschied zwischen enteraler und intravenöser Darreichung von Digitaline-Nativell. Fromherz und Welsch[6] stellten fest, daß Digitoxin oral noch stärker wirkt als intravenös, da per os kleinere Mengen tödlich wirkten. Am wenigsten wahrscheinlich sind die Ergebnisse der letztgenannten Autoren. Alle Arbeiten, die sich bis jetzt mit der Wirkung der Digitalissubstanzen per os beschäftigten, behaupten das Gegenteil, daß nämlich die Digitalissubstanzen im Magendarmkanal einer Hydrolyse unterworfen sind. Wenn die Angaben von Fromherz und Welsch richtig wären, so würde das eine gewisse Aktivation des Digitoxins im Gastrointestinaltrakt bedeuten.

In leichter Äthernarkose wurde aseptisch die Bauchhöhle in einer Länge von etwa 3 cm geöffnet. Die Digitoxinlösung 1 : 6000 für 1 mg Digitoxin 1 ccm Alkohol wurde 5 cm distal vom Pylorus mittels einer dünnen Nadel injiziert. Das Gefäß und die Spritze wurden danach mit 2 ccm phys. Kochsalzlösung nachgespült und ebenso eingespritzt. Um das Erbrechen der Versuchstiere zu verhüten, injizierten wir subcutan 0,3 g/kg Urethan eine halbe Stunde vor der Operation. Sie verblieben einige Zeit am Operationsbrett und wurden mit einem elektrischen Heizkissen gewärmt. Wenn die Dosis nicht letal wirkte, heilte die Operationswunde innerhalb 4 Tagen zu. Die Tabelle 3 zeigt, daß 50% der Magnus-Hatcher-

---

[22] Issekutz, B.: Biochem. Zentralh. **20**, 316 (1918). — [23] Redonnet-Alday: Archivos Cardiol. **9**, 251 (1928); zitiert nach Handb. exper. Pharmakol., Erg.-Werk, I, 1935. — [24] Raymond-Hamet: C. r. Soc. Biol. **109**, 279 (1932).

Tabelle 3. Enterale Toxizität und Kumulation von Digitoxin.

Versuch Nr.	Katze Gewicht in g	Injektion der Magnus-Hatcher Dosis	Lebend bzw. tot nach	Erscheinungen Befund im Dünndarm (D.)	Auffüllung nach Tage	Endgewicht in g	Letale Zudosierung von Digitoxin mg/kg	Letale Zudosierung von Digitoxin % der Dosis let. min.	Restschädigung
28	2475	50	lebend	am 6. Tage Abortus, langsame Erholung.					
29	3255	50	„	am 4. Tage frißt, lebhaft.					
30	2500	50	„	erbricht mehrmals, am 3. Tage frißt.					
31	3605	50	„	2 Tage viel erbrochen, dann rasche Erholung.					
33	3408	50	„	Unterkieferabsceß, starke Abmagerung.					
34	2983	50	„	mehrmals erbrochen, rasche Erholung.					
35	2123	50	„	am 3. Tage frißt, rasche Erholung.	21	2122	0,495	109,9	0
36	2760	50	„	apathisch, frißt wenig, langsame Erholung.					
37	3210	50	„	lebhaft, rasche Erholung.	21	3550	0,474	105,2	0
38	2165	50	† 96 Std.	apathisch, stark abgemagert, D. leer.					
39	4530	60	lebend	mehrmals erbrochen, langsame Erholung.	21	4210	0,448	99,3	0,6
42	4050	60	„	Speichelfluß, apathisch, ab 4. Tag frißt wenig.	21	3800	0,538	119,4	0
43	2395	60	„	mehrmals erbrochen, langsame Erholung.	21	2220	0,451	100,1	0
45	2815	60	„	stark abgemagert, sehr apathisch.					
68	2440	60	„	am 3. Tage frißt, rasche Erholung, D. leer.					
72	4300	60	„	unruhig, mehrmals erbrochen.					
73	2493	60	† 4 Std.	plötzlicher Tod, sehr unruhig, im D. helle Flüssigkeit					
74	2067	60	† 13 Std.	in 20 Min. erbrochen, D. leer.					
75	3290	60	† 2,30 Std.	plötzlicher Tod, D. leer.					
76	2303	70	† 12 Std.	dauernder Brechreiz, sehr unruhig, D. leer.					
77	2130	70	† 45 Std.	Brechreiz, Diarrhoe, stark abgemagert, im D. lichte Galle.					
78	1735	70	† 15 Std.	liegt apathisch, Speichelfluß, plötzlicher Tod, D. leer.					
79	2255	70	† 12 Std.	mehrmals erbrochen, im D. lichte Galle.					
81	1848	70	† 5 Std.	sehr apathisch, Speichelfluß, stirbt unbemerkt, im D. lichte Galle.					
82	3495	70	† 12 Std.	plötzlicher Tod, D. leer.					

Dosis, die bei 10 Tieren verwendet wurde, nur bei einem Tier tödlich wirkte. 9 Katzen haben wir 60% injiziert; 6 von den Katzen blieben am Leben, während 3 andere starben. Diese Menge überlebten also zwei Drittel der Katzen. Wir mußten deshalb noch 70% der Magnus-Hatcher-Dosis prüfen. Diese wurde 6 Katzen verabreicht und wirkte bei allen tödlich. Der Verlauf der Vergiftung war ähnlich, wie bei den Versuchstieren, die Digitoxin intravenös erhielten. In der Rubrik 5 sind die wichtigsten Erscheinungen angegeben. 21 Tage nach der Injektion wurde zwecks Kontrolle die Zusatzdosis bei 5 Tieren bestimmt. Alle 5 Tiere erholten sich gut, zeigten keine toxischen Erscheinungen, auch wurde keine Restschädigung gefunden, da sie normale Magnus-Hatcher-Dosis verbrauchten.

Wir sehen, daß sowohl die Dos. let. min. zeitlos wie auch die enteral kleinste tödliche Menge 70% der Magnus-Hatcher-Menge entsprechen. Der Wirkungskoeffizient enteral/intravenös beträgt somit 1,0. Praktisch bedeutet dies, daß von der Darmschleimhaut Digitoxin quantitativ resorbiert wird. Die Injektion per Laparatomiam stört wahrscheinlich nicht wesentlich die genaue Ermittlung des Wirkungskoeffizienten. Wir operierten im leichten Ätherrausch und der ganze Eingriff dauerte nicht länger als 5—6 Minuten; trotzdem haben wir uns bemüht, die Digitalissubstanzen durch eine Sonde direkt in das Duodenum einzuführen. Es wurden verschiedene Gummisonden bei Röntgenkontrolle in den Magen eingeführt, doch gelang es aber nicht, die Sonde in das Duodenum einzuführen. Wäre es der Fall gewesen, so hätten wahrscheinlich die Tiere um einige % mehr Digitoxin vertragen und in diesem Falle wäre der Wirkungskoeffizient größer als 1,0 gewesen. Dies bedeutet, daß wir mit einer teilweisen Zerstörung des Digitoxins im Darmkanal rechnen müssen. Wenn wir nun den Wirkungskoeffizienten des Digitoxins mit demselben von g-Strophanthin und Digilanid aus den vorherigen Mitteilungen vergleichen, so ergibt sich die Schlußfolgerung: die drei Repräsentanten aus der Reihe der Digitalisglykoside: Digitoxin, Diginalid (Gesamtpräparat) und g-Strophanthin üben in Mengenverhältnissen wie 1 : 2 : 7 vom Darmkanal aus eine gleiche pharmakodynamische Wirkung aus.

Bei der enteralen Resorption ist die Resorptionsgeschwindigkeit der Digitalissubstanzen von großer Bedeutung. Die Resorptionsgeschwindigkeit verfolgt man durch Bestimmung des in verschiedenen Zeitabschnitten resorbierten Prozentsatzes aus einer intraduodenalen Dosis. Wir haben gezeigt, daß aus einer enteral tödlichen Dosis von 0,6 mg/kg Digilanid in 6 Stunden ein Viertel und in 14 Stunden bis zu drei Vierteln resorbiert wurden. Aus einer Magnus-Hatcher-Dosis von g-Strophanthin gelangten zur Resorption in 3 Stunden 6,7% und in 6 Stunden nur 12,6%. Nyáry[25] gibt an, daß von einer Magnus-Hatcher-Dosis Digitoxin in 3 Stunden 49%, in 6 Stunden hingegen 100%, d. h. die ganze enteral tödliche Dosis resorbiert

[25] Nyáry, A. von: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **165**, 432 (1932).

wurde. Wir haben in einer früheren Mitteilung die von Nyáry verwendete Methode modifiziert und haben experimentell gezeigt, daß die Resorptionswerte Nyárys sehr hoch sind.

Tabelle 4. Enterale Resorption von Digitoxin. Duodenaldosis 0,451 mg/kg.

Versuch Nr.	Katze Gewicht in g	Intravenöse Zusatzdosis von Digitoxin			% des resorbierten Digitoxins
		nach Stunden	mg	mg/kg	
8	2630	† 2 Std. 45 Min.	—	—	—
9	3000	† 5 Std. 15 Min.	—	—	—
10	4320	† 4 Std. 20 Min.	—	—	—
11	2910	† 3 Std.	—	—	—
12	2465	† 6 Std.	—	—	—
13	3560	† 6 Std.	—	—	—
14	2255	† 6 Std.	—	—	—
15	2765	† 6 Std.	—	—	—
16	3025	6 Std.	1,034	0,342	24,2
17	3700	6 Std.	1,220	0,330	26,9
18	1623	6 Std.	0,528	0,325	27,8
19	2860	6 Std.	0,750	0,262	41,8
23	4000	6 Std.	0,935	0,234	48,1
24	2530	6 Std.	0,520	0,214	52,5
25	2360	6 Std.	0,475	0,201	55,4
26	1688	6 Std.	0,236	0,139	69,1
27	4185	6 Std.	1,050	0,251	44,3

In einer Versuchsserie wurde zwecks Kontrolle die Resorption aus einer intraduodenal injizierten Magnus-Hatcher-Dosis in 6 Stunden bestimmt. Die Laparatomie wird in Perkain-Lokalanestesie ausgeführt, die Bestimmung der Zusatzdosen in leichter Äthernarkose. Die genaue Methodik wurde in der vorigen Arbeit beschrieben. Wie schon früher gesagt, sind die Versuchsergebnisse nicht eindeutig. Die verabreichte Magnus-Hatcher-Dosis ist überletal und bewirkte bei 4 Tieren innerhalb 6 Stunden den Tod. Am Anfang der Narkose, noch vor der Titration, starben weitere 4 Katzen und wir konnten daher nur 9 Katzen auffüllen. Die Zusatzdosen sind so verschieden, daß es unmöglich ist, einen Mittelwert zu bestimmen. Bei der Besprechung der vorherigen Versuchsserie wurde der Versuch gemacht, die Streuung dieser Zusatzdosen zu erklären.

Schlußfolgerung.

Der normale Magnus-Hatcher-Titrationswert von Digitoxin beträgt 0,451 mg/kg. In zeitlich nicht begrenzter Wirkungsdauer ist die Dos. let. min. 70% der Magnus-Hatcher-Menge.

Die durch eine subletale Digitoxininjektion (50—60% der Magnus-Hatcher-Dosis) vergifteten Katzen erholten sich rasch. Der größte durchschnittliche Gewichtsverlust trat am 4. Tage nach der Injektion ein, nach 7 Tagen wurde nur noch eine durchschnittliche Gewichtsabnahme von 1,87% festgestellt.

7 Tage nach der Vergiftung wurde eine Restschädigung von 30% gefunden. Vom 10. Tage an entsprachen die Zusatzdosen den Magnus-Hatcher-Titrationswerten und die Tiere waren ganz gesund.

Bei einigen Versuchstieren wurden die Herzen histologisch untersucht und keine anatomischen Veränderungen gefunden. Die Kumulation des Digitoxins nach einer subletalen Dosis wurde diskutiert.

Die enteral tödliche Dosis bei zeitlich nicht begrenzter Wirkungsdauer beträgt 70% der Magnus-Hatcher-Menge. Der Wirkungskoeffizient enteral/intravenös ist gleich 1,0, d. h. Digitoxin wirkt vom Darmtrakt aus so wie intravenös.

In einer Serie wurde versucht, den aus einer Magnus-Hatcher-Dosis in 6 Stunden enteral resorbierten Prozentsatz zu bestimmen. Die Ergebnisse der einzelnen Versuche sind so verschieden, daß man keinen Mittelwert bestimmen kann. Die Streuung der Versuchsergebnisse wurde diskutiert.

Weitere pharmakologische Untersuchungen über Akuammin.

Zusammenhang zwischen lokalanästhesierender Wirkung und Steigerung der Adrenalinwirksamkeit.

Von

Raymond-Hamet.

Mit 9 Textabbildungen (12 Einzelbildern).

(Eingegangen am 14. Oktober 1941.)

Die Samen von Picralima nitida (Stapf) Th. u. Hél. Durand, einer Apocynacee des tropischen Afrikas, sind, nachdem ihnen Holmes (1) eine fast ans Wunderbare grenzende Wirksamkeit gegen Malaria zugeschrieben hatte, in Belgisch-Kongo zur Behandlung der tropischen Tertiana ausversucht worden, haben sich aber als ungeeignet erwiesen, die Entwicklung dieser Krankheit zu beeinflussen (2).

Henry (3, 4) ist es gelungen, aus den Picralimasamen 7 kristallinische Alkaloide zu extrahieren, deren Bruttoformeln er wohl feststellen, die er aber keinem bekannten Alkaloidtypus zuordnen konnte (5). Es handelt sich um das Akuammin ($C_{22}H_{28}N_2O_4$), das Akuammicin und Pseudoakuammicin ($C_{19}H_{20}N_2O_2$), das Akuammidin ($C_{21}H_{24}N_2O_3$), das Akuammigin und Pseudoakuammigin ($C_{22}H_{26}N_2O_3$) und das Akuammilin ($C_{22}H_{24}N_2O_4$). Eine achte Base, das Akuammenin ($C_{20}H_{22}N_2O_4$), konnte nur in der Form des kristallinischen Pikrats erhalten werden.

Bevor wir die pharmakologische Prüfung dieser Alkaloide in Angriff nahmen, wußte man von ihnen nur, daß sie gegen Vogelmalaria nicht wirksam sind (6).

In einer vorausgegangenen Arbeit (7) haben wir mitgeteilt, daß das Akuammin, welches von sämtlichen Alkaloiden der Picralimasamen das quantitativ wichtigste ist, die blutdrucksteigernde und die Gefäße der Niere verengernde Wirkung des Adrenalins verstärkt, während es gleichzeitig die durch Karotidenverschluß hervorgerufene Blutdrucksteigerung und Gefäßverengerung der Niere abschwächt. Wir schlossen daraus, daß als Hauptursache der Wirkungssteigerung des Adrenalins durch Akuammin die Außerfunktionsetzung der Blutdruckzügler anzusehen ist.

Da uns nur eine kleine Menge des Akuammins zur Verfügung stand, war eine vollständige pharmakologische Analyse des Stoffes nicht durchführbar. Immerhin konnten außer den eben genannten (7) noch einige weitere physiologische Eigenschaften dieses interessanten Alkaloids aufgedeckt werden, worüber im nachfolgenden berichtet werden soll.

Es sei hinzugefügt, daß wir in sämtlichen Versuchen das Akuammin in Form seines in physiologischer Kochsalzlösung leicht löslichen kristallinischen Hydrochlorids angewandt haben.

Wirkung auf die Atmung.

In den Dosen, in welchen wir das Akuammin benutzten, beeinflußte es die Atmung nur wenig. So hatte in einem unserer Versuche die intravenöse Injektion von 1 (vgl. Abb. 2), 2 (vgl. Abb. 3), 4 und sogar von 8 mg/kg keine Verkleinerung der Amplituden zur Folge und nur die Frequenz der Atemzüge nahm etwas ab. Nach der Dosis von 15 mg/kg, die das Tier somit insgesamt erhalten hatte, war der anfängliche Atmungsrhythmus nur um etwa 30% verlangsamt.

Wirkung auf den arteriellen Blutdruck.

An Hunden in Chloralosenarkose und nach beiderseitiger Durchtrennung der Vagi oder auch bei Intaktbleiben derselben bewirkte das

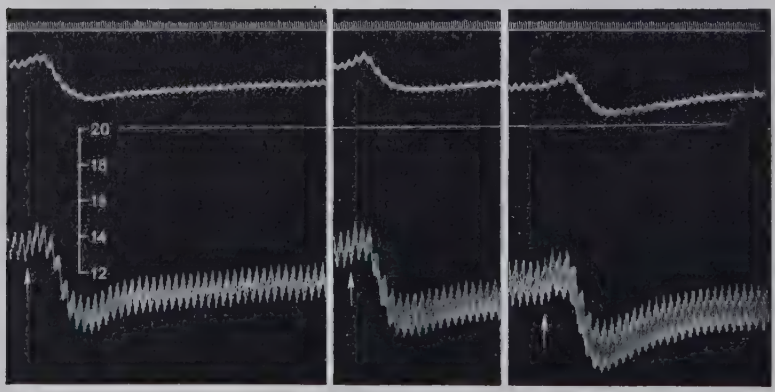


Abb. 1. Versuch vom 21. II. 1940. Hund (Fox) von 6,5 kg Gewicht. Chloralosenarkose (140 mg/kg)-Doppelte Vagotomie am Halse. Künstliche Atmung. Oben: Zeit in Sekunden. Erste Kurve: Veränderungen des Nierenvolumens, registriert mit Hilfe des von Raymond-Hamet modifizierten Onkographen von Hallion und Comte. Zweite Kurve: Druckänderungen in der Carotis, registriert mit Hilfe eines Quecksilbermanometers. Beim ersten Pfeil injizierte man in die V. saphena 6,5 mg Akuamminhydrochlorid, gelöst in 3,25 ccm physiologischer Kochsalzlösung, beim zweiten Pfeil 13 mg Akuamminhydrochlorid in 6,5 ccm physiologischer Kochsalzlösung, beim dritten Pfeil 26 mg Akuamminhydrochlorid in 13 ccm physiologischer Kochsalzlösung. Kurve auf $^1/_2$ reduziert.

Akuammin in den Dosen von 1—4 mg/kg eine deutliche Blutdrucksenkung. Sie begann sehr bald nach der intravenösen Injektion des Giftes und erreichte, ständig zunehmend, rasch ihr Maximum. Die Rückkehr zur Norm erfolgte nur sehr langsam.

So konnten wir z. B. an einem Hunde (doppelte Vagotomie) feststellen (vgl. Abb. 1), daß Akuammin in der Dosis von 1 mg/kg den Blutdruck rasch um 38 mm Hg (von 142 auf 104 mm) absinken ließ, worauf

dann langsam der Anfangswert wieder erreicht wurde. Nach einer 2. Injektion, diesmal von 2 mg/kg, sank der Blutdruck um 36 mm Hg (von 142 auf 106 mm), um sehr langsam wieder anzusteigen, so daß er 5 Minuten später erst 125 mm Hg betrug. Nach einer 3. Injektion, jetzt in einer Menge von 4 mg/kg, sank der Blutdruck um 37 mm Hg unter das vorherige Niveau (von 125 auf 88 mm), kehrte dann aber wieder fast auf dieses zurück. Wie die onkographischen Kurven zeigen, weist das Nierenvolumen nach jeder der drei Injektionen Schwankungen auf, die den Veränderungen des Blutdruckes parallel gehen, und zwar handelt es sich jedesmal um eine passive Herabsetzung des Nierenvolumens.

In einer zweiten Versuchsreihe an einem Hunde mit intakten Vagi sank der Blutdruck nach Injektion von 1 mg/kg Akuammin (Abb. 2)

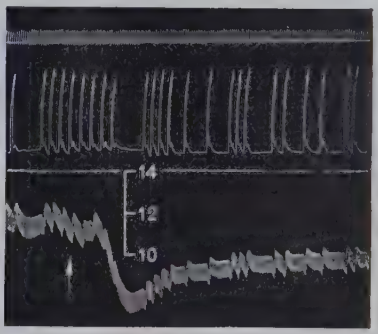


Abb. 2. Versuch vom 29. II. 1940. Hündin von 6,5 kg Gewicht. Chloralosenarkose (120 mg/kg). Oben: Zeit in Sekunden. Obere Kurve: Atmungsbewegungen, registriert mit Hilfe der Apparatur zur Beobachtung der Herzpulsationen nach Marey. Zweite Kurve: Druckänderungen in der Carotis, registriert mit Hilfe eines Quecksilbermanometers. Beim Pfeil injizierte man in die V. saphena 6,5 mg Akuamminhydrochlorid, gelöst in 3,25 ccm physiologischer Kochsalzlösung. Kurve auf $^{6}/_{10}$ reduziert.

plötzlich von 120 auf 81 mm Hg, also um 39 mm unter den Anfangswert, worauf er diesem zunächst rasch, dann langsamer wieder zustrebte. Als Folge einer 2. Injektion (2 mg/kg) sank der Blutdruck rasch von 109 auf 80 mm Hg (Abb. 3), stieg dann auf 86 mm und sank von neuem auf 75 mm Hg, um schließlich sein Anfangsniveau wieder zu erreichen. Nach einer 3. Injektion (4 mg/kg) stieg der Blutdruck von 100 auf 110 mm Hg, sank dann schnell auf 87 mm, stieg wieder auf 92 mm Hg an, um bis auf 84 mm abzusinken und blieb endlich mehrere Minuten lang auf dieser Höhe. Nach einer 4. Injektion, diesmal von 8 mg/kg, konnte man beobachten, wie der Blutdruck nach einem zeitweisen Anstieg (von 83 auf 91), wahrscheinlich infolge der injizierten Flüssigkeitsmenge (13 ccm), auf 66 mm Hg absank und sich sehr lange auf diesem Niveau hielt.

Wirkung auf den Darm in situ.

Die mit Hilfe der Ballonmethode durchgeführte Registrierung der Kontraktionen der Ringmuskulatur des Dünndarms in situ ließ eine darmhemmende Wirkung des Akuammins erkennen. Schon nach der Dosis von 1 mg/kg rief diese Substanz eine starke und lange anhaltende Verkleinerung der Amplituden hervor (vgl. Abb. 6).

Einfluß auf die Wirkungen des Adrenalins.

Wie schon eingangs erwähnt wurde, haben wir bereits zeigen können (7), daß die beim Hunde mit durchschnittenen Vagi mit Adrenalin erzielbare Blutdrucksteigerung und Verengerung der Nierengefäße durch Akuammin eine Verstärkung erfährt. Es wären zahlreiche Versuche nötig gewesen, um diese Verstärkung näher zu erforschen und deren Mechanismus klarzulegen. Wegen Fehlens einer genügenden Menge des Akuammins haben wir leider nur eine kleine Anzahl von Versuchen machen können, worüber nun berichtet werden soll.

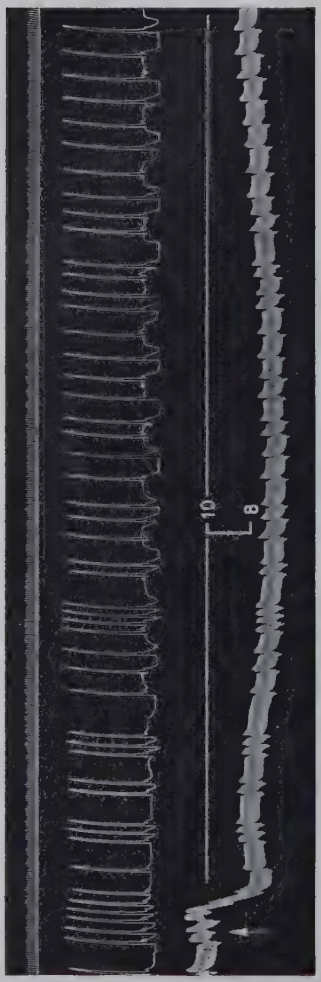


Abb. 3. Erfolg des Versuchs von Abb. 2. Beim Pfeil injizierte man in die V. saphena 13 mg Akuamminhydrochlorid, gelöst in 6,5 ccm physiologischer Kochsalzlösung. Abbildung auf $^6/_{10}$ verkleinert.

Zunächst schien es uns notwendig, den Einfluß festzustellen, den Akuammin auf die durch Adrenalin bewirkte Blutdrucksteigerung, Herzverlangsamung und Apnoe am Hunde mit intakten Vagi ausübt. So gelang es uns zu zeigen, daß das Gift mit steigender Dosis die Adrenalinhypertension mehr und mehr verstärkt, während zu gleicher Zeit die reflektorische Herzverlangsamung allmählich zurückgeht, daß aber die Apnoe, welche anfangs die genannten Phänomene begleitet, fast unbeeinflußt bleibt. Wie aus Abb. 4 zu ersehen ist, hatte zu Beginn des Versuchs die Injektion von 0,01 mg Adrenalin den Blutdruck von 136 auf 214 mm Hg, also um 78 mm gesteigert und gleichzeitig eine sehr starke Bradykardie und eine 44 Sekunden anhaltende Apnoe verursacht. Nach Verabreichung von 1 mg/kg Akuammin steigerte Adrenalin, in der gleichen Dosis wie vorhin, den Blutdruck von 103 auf 204 mm Hg, also um 101 mm, und bewirkte noch eine Apnoe von 45 Sekunden Dauer, doch war die Bradykardie viel weniger deutlich als vorher. Nachdem in Fortsetzung des Versuchs (graphisch nicht wiedergegeben) das Tier eine zweite Akuammininjektion (2 mg/kg) erhalten hatte, steigerte Adrenalin den Blutdruck von 97 auf

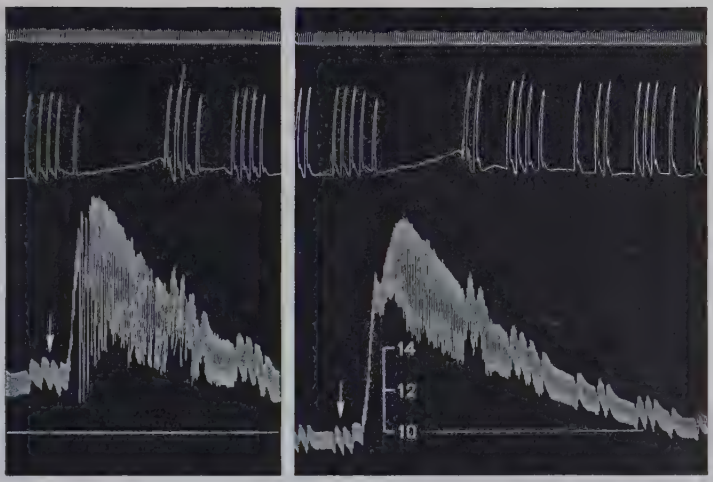


Abb. 4. Versuch vom 29. II. 1940. Hündin von 6.5 kg Gewicht. Chloralosenarkose (120 mg/kg). Oben: Zeit in Sekunden. Erste Kurve: Atmungsbewegungen, registriert mit der von Marey angegebenen Apparatur zur Beobachtung der Herzpulsationen. Zweite Kurve: Druckänderungen in der Carotis, registriert mit Hilfe eines Quecksilbermanometers. Beim Pfeil, in I und II, injizierte man in die V. saphena 0.01 mg Adrenalinhydrochlorid in 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung, zwischen I und II 6.5 mg Akuamminhydrochlorid in 3,25 ccm physiologischer Kochsalzlösung. Abbildung auf $^6/_{10}$ reduziert.

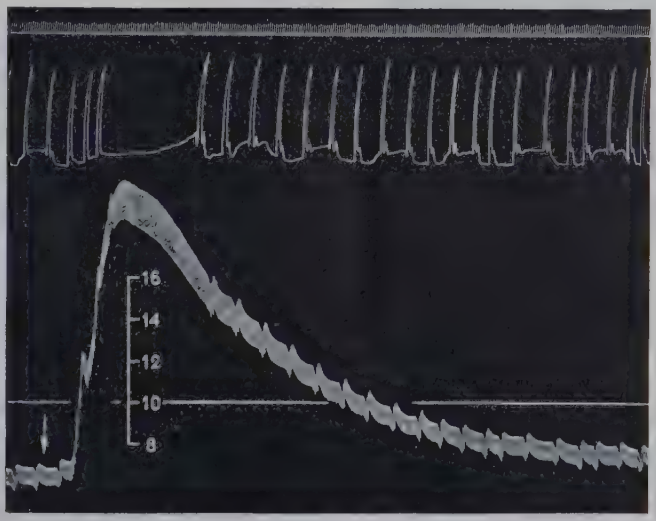


Abb. 5. Abschluß des Versuchs. Beim Pfeil injizierte man in die V. saphena 0,01 mg Adrenalinhydrochlorid in 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung. Vor dem Adrenalin waren bereits insgesamt 45.5 mg Akuamminhydrochlorid injiziert worden. Abbildung auf $^6/_{10}$ verkleinert.

217 mm Hg machte eine 39 Sekunden anhaltende Apnoe, verursachte aber eine Bradykardie noch weniger deutlich als vorher. Schließlich, nachdem das Tier insgesamt 7 mg/kg Akuammin erhalten hatte, ließ Adrenalin (immer in der ursprünglichen Dosis) den Blutdruck von 71 auf 207, also um 136 mm Hg zunehmen (Abb. 5), und verursachte eine Apnoe von 48 Sekunden Dauer, jedoch trat eine reflektorische Verlangsamung des Herzrhythmus jetzt nicht ein. Es sei hervorgehoben, daß in diesem Versuch die Dauer der Adrenalinapnoe fast die gleiche war wie am normalen Tier, obwohl sie durch eine bedeutend stärkere Hypertension verursacht wurde. Man kann deshalb wohl mit Recht sagen, daß das Akuammin hier eine wesentliche Herabsetzung der Sensibilität des Druck-Atmungs-Reflexmechanismus herbeigeführt hat.

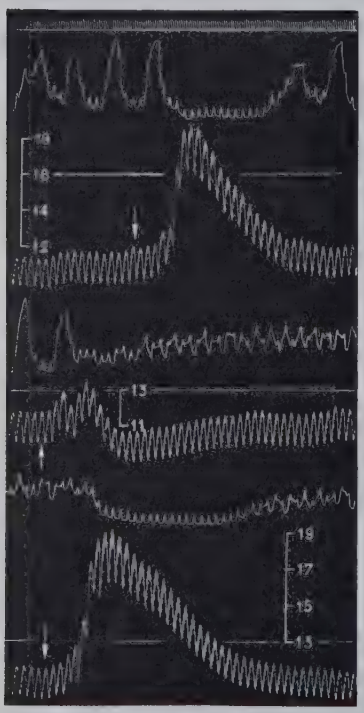


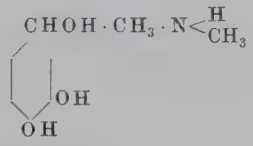
Abb. 6. Versuch vom 6. III. 1940. Hund (Fox) von 8 kg Gewicht. Chloralosenarkose (140 mg/kg). Doppelte Vagotomie. Künstliche Atmung. Ganz oben: Zeit in Sekunden. Erste, dritte und fünfte Kurve: Kontraktionen des Dünndarms in situ, aufgezeichnet mit Hilfe der Ballonmethode. Zweite, vierte und sechste Kurve: Druckänderungen in der Carotis, mit Hilfe eines Quecksilbermanometers registriert. Beim Pfeil Injektion in die V. saphena, in I (erste und zweite Kurve) und III (fünfte und sechste Kurve) von 0,006 mg Adrenalinhydrochlorid in 0,6 ccm, in II (dritte und vierte Kurve) von 8 mg Akuamminhydrochlorid in 4 ccm physiologischer Kochsalzlösung gelöst. Abbildung auf $^1/_2$ verkleinert.

Noch eine Frage war zu beantworten. Steigert das Akuammin nicht nur die motorischen Wirkungen des Adrenalins, sondern vielleicht auch jene, welche nach Dale als inhibitorische angesehen werden, insbesondere die darmhemmende und die hypotensive Wirkung?

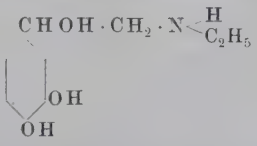
Bezüglich der darmhemmenden Wirkung des Adrenalins zeigen unsere Versuche, daß dieselbe durch Akuammin gleichzeitig verstärkt und verlängert wird. So ist beispielsweise aus Abb. 6 zu ersehen, daß eine Injektion von 0,006 mg Adrenalin, welche anfangs die Peristaltik des Dünndarms nur 57 Sekunden lang hemmte und den Tonus des Organs nur ganz wenig herabsetzte, nach Verabreichung von 1 mg/kg Akuammin die Peristaltik für 77 Sekunden total hemmte und gleichzeitig einen sehr deutlichen Tonusabfall verursachte. Es muß darauf hingewiesen werden, daß in diesem Versuch die durch Akuammininjektion bewirkte Verstärkung der Adrenalinblutdrucksteigerung nur von 71 mm (der Blutdruck stieg von 116 auf 187 mm Hg)

auf 78 mm Hg (von 115 auf 193 mm) getrieben werden konnte, dafür wurde sie aber durch das Alkaloid sehr deutlich verlängert.

Was den Einfluß des Akuammins auf die hypotensive Wirkung des Adrenalins betrifft, so kann eine solche an dem von uns benutzten Versuchstier, dem mit Chloralose narkotisierten Hund, nur schwer studiert werden. So geben beispielsweise Handowsky und Goormaghtigh (8) an, man habe im Laboratorium von Heymans, wo eine beträchtliche Anzahl von Hunden mit Chloralose narkotisiert worden sind, niemals eine Herabsetzung des arteriellen Blutdruckes nach intravenöser Injektion von Adrenalin in kleinen Dosen beobachten können. Demgegenüber haben wir recht oft am chloralosierten Hunde als Folge der intravenösen Injektion einer kleinen Adrenalinmenge eine Blutdrucksenkung gesehen, wenn wir eine solche auch nicht in jedem Falle erhalten konnten. Aus diesem Grunde bedienten wir uns, wenn wir am chloralosierten Hunde den adrenalinempfindlichen blutdrucksenkenden Mechanismus in Tätigkeit setzen wollten, statt des Adrenalins des Dioxyphenyläthanoläthylamins, welches zum Unterschiede von Adrenalin statt der Methylamingruppe eine Äthylamingruppe trägt. Diese Substanz ist, bevor wir uns mit derselben be-



Adrenalin



Dioxyphenyläthanoläthylamin

faßten (9), nur das Objekt einer pharmakologischen Untersuchung von Loewi und Meyer (10) gewesen. Wir haben gefunden (11), daß es sich hier um ein typisch sympathicomimetisches Amin handelt, welches sich vom Adrenalin nur dadurch unterscheidet, daß es a) dessen Wirkung erst in viel höheren Dosen zeigt und b) daß es proportional zur Beeinflussung der Vasokonstriktoren viel stärker als Adrenalin auf die adrenalinempfindlichen Vasodilatatoren wirkt. Nimmt man 0,001 mg des Dioxyphenyläthanoläthylaminhydrochlorids pro kg Tier, so erhält man am chloralosierten Hunde sehr leicht und in allen Fällen eine Blutdrucksenkung, die ihrer Natur und ihrem Mechanismus nach mit jener identisch ist, die durch kleinste Adrenalindosen hervorgerufen werden kann. Aus diesem Grunde haben wir den Einfluß des Akuammins auf die hypotensive Wirkung nicht des Adrenalins, sondern dieses Stoffes studiert.

Bereits früher haben wir zeigen können, daß die beiden Alkaloide, deren adrenalinpotenzierender Einfluß am besten bekannt ist, nämlich das Cocain, über welches diesbezüglich Fröhlich und Loewi (12) berichtet haben, und das Spartein, für welches Mercier (13) die gleichen Fähigkeiten angibt, auf die Blutdrucksenkung durch Dioxyphenyläthanoläthylamin ganz verschieden wirken (14). Während nämlich Cocain die Hypotension

deutlich verstärkt, wird sie durch Spartein in eine Hypertension verwandelt. Unsere Versuche haben ergeben, daß das Akuammin — wenigstens in den Dosen, welche wir benutzt haben — die hypotensive Wirkung des Dioxyphenyläthanoläthylamins abschwächt, ohne sie jedoch in eine Blutdruck-

Abb. 7. Versuch vom 28. II. 1940. Hund von 10 kg Gewicht. Chloralosenarkose (120 mg/kg). Doppelte Vagotomie. Künstliche Atmung. Ganz oben: Zeit in Sekunden. Erste Kurve: Veränderungen des Nierenvolumens, registriert mit Hilfe des von Raymond-Hamet modifizierten Onkographen von Hallion und Comte. Zweite Kurve: Druckänderungen in der Carotis, registriert mit Hilfe eines Quecksilbermanometers. Beim ersten Pfeil injizierte man in die V. saphena 0,01 mg des Dioxyphenyläthanoläthylaminhydrochlorids in 1 ccm, beim zweiten Pfeil 0,005 mg Adrenalinhydrochlorid, in 0,5 ccm physiologischer Kochsalzlösung gelöst. Abbildung um $^1/_2$ verkleinert.

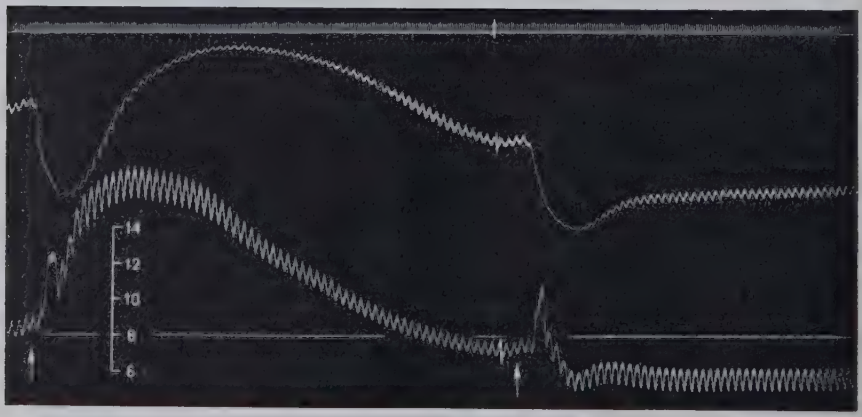


Abb. 8. Fortsetzung des Versuchs aus Abb. 7. Beim ersten Pfeil Injektion von 0,005 Adrenalinhydrochlorid, gelöst in 0,5 ccm physiologischer Kochsalzlösung, beim zweiten Pfeil Injektion von 0,01 mg Dioxyphenyläthanoläthylaminhydrochlorid in 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung gelöst. Zwischen Abb. 7 und 8 injizierte man in die V. saphena 20 mg, 40 mg und nochmals 40 mg Akuammin hydrochlorid in 10, 20 und 20 ccm physiologischer Kochsalzlösung. Abbildung um $^1/_2$ verkleinert.

steigerung umzuwandeln. Die Abb. 7 läßt erkennen, daß nach Injektion von anfänglich 0,001 mg des Dioxyphenyläthanoläthylamins pro kg Tier

der Blutdruck in einer ersten Phase von 137 auf 168 mm Hg, also um 31 mm steigt, zur gleichen Zeit, als die Niere eine unleugbare Blutgefäßverengerung durchmacht. In einem zweiten Stadium sinkt dann der Blutdruck auf 88 mm, also um 49 mm unter den Anfangswert, während sich gleichzeitig das Nierenvolumen passiv verkleinert. Wurde nun Adrenalin in der Dosis von 0,005 mg injiziert, so stieg der Blutdruck von 135 auf 192, 170 und 192 mm Hg, auf diese Weise eine Hypertension von maximal 57 mm Hg hervorrufend, die von einer schwachen renalen Gefäßverengerung begleitet wird. Nachdem das Tier insgesamt 10 mg Akuamminhydrochlorid pro kg erhalten hatte (Abb. 8), verursachte das Adrenalin — in der gleichen Dosis wie vorhin — eine Steigerung des Blutdruckes von 88 auf 126, 122 und 175 mm Hg, dadurch eine Hypertension von maximal 87 mm Hg bewirkend, und wird von einer bedeutend stärkeren Gefäßverengerung der Niere begleitet als zu Beginn des Versuchs. Das nun in derselben Dosis wie vorhin injizierte Dioxyphenyläthanoläthylamin verursachte in einem ersten Stadium eine initiale Hypertension von 32 mm Hg (wodurch der Blutdruck von 76 mm auf 108 mm Hg steigt), in einer zweiten Phase eine Hypotonie, durch welche der Blutdruck auf 60, 66 und 63 mm Hg absinkt, d. h. maximal um 16 mm unter den Anfangswert. Die renale Gefäßverengerung ist jetzt, wie das Onkogramm erkennen läßt, viel deutlicher ausgesprochen als vor der Verabreichung des Akuammins.

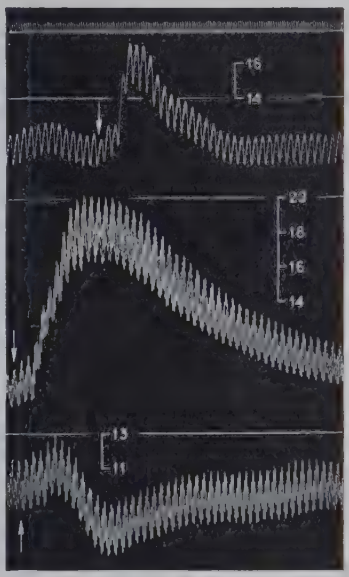


Abb. 9. Versuch vom 11. III. 1940. Hund (Fox) von 10 kg Gewicht. Chloralosenarkose (140 mg/kg). Doppelte Vagotomie am Halse. Künstliche Atmung. Oben: Zeit in Sekunden. Erste, zweite und dritte Kurve: Druckänderungen in der Carotis, registriert mit Hilfe eines Quecksilbermanometers. Bei den Pfeilen injizierte man in die V. saphena 0,0075 mg Adrenalinhydrochlorid in 0,75 ccm physiologischer Kochsalzlösung. Zwischen I (erste Kurve) und II (zweite Kurve) erhielt das Tier in die V. saphena 10, 20 und 30 mg Akuamminhydrochlorid in 5, 10 und 15 ccm physiologischer Kochsalzlösung, zwischen II (zweite Kurve) und III (dritte Kurve) 20 mg Yohimboasäurehydrochlorid in 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung. Abbildung um $^1/_2$ verkleinert.

Während die Adrenalinhypotension am normalen chloralosierten Hunde nur schwer zu erhalten ist, ist dieselbe am chloralosierten Hunde unter dem Einfluß von Yohimbin so leicht zu demonstrieren, daß, nachdem wir (15) diesen Fall einer Adrenalinumkehr entdeckt haben, in Frankreich daraus ein Kursexperiment geworden ist.

Aus Abb. 9 ist zu ersehen, daß die durch Akuammin verstärkte Adrenalinhypertension in gleicher Weise wie das auch bei der normalen

Adrenalinwirkung der Fall ist, durch die Sympathicolytica der Yohimbingruppe umgekehrt wird. Eine Injektion von 0,0075 mg Adrenalin, welche einen Anstieg des Blutdruckes um 53 mm Hg (von 119 auf 172 mm) verursacht hatte, steigerte ihn nach Verabreichung von 6 mg/kg Akuammin um 100 mm Hg (von 102 auf 202 mm). Injizierte man nun 2 mg/kg des Hydrochlorids der Yohimboasäure, eines Yohimbinderivats, dessen sympathicolytische Fähigkeit wir entdeckt haben (16), so bewirkte Adrenalin in der Dosis wie vorher eine sehr deutliche Hypotension, in deren Verlauf der Blutdruck, welcher vorübergehend von 116 auf 129 mm Hg gestiegen war, auf 90 mm Hg, also um 26 mm unter den Anfangswert absank.

Lokalanästhesierende Wirkung.

Die lokalanästhesierende Wirkung des Akuammins wurde mit Hilfe der von Regnier (17) angegebenen Methode geprüft, welche es gestattet, für schwache Anästhesien gleichzeitig Intensität und Dauer derselben, und für starke Anästhesien die Zeit festzustellen, während welcher eine Unempfindlichkeit besteht, die „gegen mehr als 100 mit einem Reizhaar verabfolgter Reize resistent ist". Mit dieser Methode an der Hornhaut des Kaninchenauges in situ überzeugt man sich zunächst davon, daß in den Minuten 0 (Beginn des Versuchs) und 4 eine einzige Reizung der Cornea mit einem geeigneten Haar vollkommenen Lidschluß erzeugt, worauf man $4^1/_2$ und $5^1/_2$ Minuten nach Beginn einen Tropfen der zu untersuchenden Lösung auf die Hornhaut bringt. 8, 10, $12^1/_2$, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 und 60 Minuten nach Beginn des Versuchs reizt man sodann die Cornea mit dem Haar, sooft als erforderlich ist, um Lidschluß zu erhalten, jedoch nicht mehr als 100mal hintereinander. Als Index für die Anästhesie gilt die Gesamtzahl der beigebrachten Reize. Das Fehlen einer Anästhesie drückt man durch die Zahl 13 aus (13 Reizungsserien haben den Reflex bei der ersten Reizung ausgelöst). Die stärkste Anästhesie entspricht der Zahl 1300 (13 Reizungsserien haben den Reflex bei der 100. Reizung nicht hervorrufen können). Um die lokalanästhesierende Wirkung einer Substanz festzustellen, werden die Versuche an einem Auge des Kaninchens durchgeführt, jedoch läßt man nach jeder Versuchsreihe 24 Stunden verstreichen. Bestimmt werden drei Indices der Anästhesie, jene zweier verschiedener Konzentrationen von Cocainhydrochlorid und einer Konzentration der zu untersuchenden Substanz, deren Index ungefähr zwischen den beiden genannten liegen soll. Die 3 Indices werden sodann auch am anderen Auge desselben Kaninchens bestimmt und ferner am linken und rechten Auge vieler anderer Kaninchen. Für jede der 3 untersuchten Lösungen ist der mittlere Index der Anästhesie gleich dem arithmetischen Mittel der Indices, die man am linken und rechten Auge der Tiere erhalten hat, an welchen die gleichen Konzentrationen geprüft wurden. Schließlich errechnet man auf Grund des

erhaltenen mittleren Index die ungefähre Konzentration des Cocainhydrochlorids, welche theoretisch denselben mittleren Anästhesie-Index haben würde, wie der untersuchte Stoff in der angewandten Konzentration. Das Verhältnis zwischen diesen beiden Konzentrationen gilt dann als gleichwertig jenem, welches zwischen der lokalanästhesierenden Kraft des untersuchten Stoffes und der des Cocainhydrochlorids besteht.

Im nachfolgenden werden die Ergebnisse der mit der beschriebenen Methode angestellten Versuche einerseits mit einer wässerigen Lösung (1 %) des Akuamminhydrochlorids, andererseits mit zwei wässerigen Lösungen des Cocainhydrochlorids (0,5 und 1 %) wiedergegeben.

Anzahl der zur Erzielung des Lidschlusses erforderlichen Reizungen nach Instillation einer Lösung von

	Akuaminhydrochlorid 1 %		Cocainhydrochlorid 0,5 %		Cocainhydrochlorid 1 %	
	Auge		Auge		Auge	
	rechtes	linkes	rechtes	linkes	rechtes	linkes
Kan. 1.	508	542	409	399	627	706
„ 2.	562	534	315	364	713	607
„ 3.	616	638	276	331	565	607
„ 4.	519	648	317	325	612	673
Durchschnittswert für beide Augen	570		342		638	

Da die mittleren Indices für eine 0,5 %ige bzw. 1 %ige Cocainlösung 342 bzw. 638 betragen, der mittlere Index für eine 1 %ige Akuamminhydrochloridlösung aber 570, so kann die anästhesierende Kraft des Akuammins mit 88 % von derjenigen des Cocains bewertet werden.

Da das Cocain ein typischer Vertreter der Lokalanästhetica und gleichzeitig das erste Alkaloid ist, dem man die Fähigkeit zuerkannt hat, die hypertensive Wirkung des Adrenalins zu verstärken (12), so suchten wir festzustellen, ob nicht zwischen beiden physiologischen Eigenschaften eine Beziehung besteht.

Wir haben konstatieren können, daß es zahlreiche Alkaloide gibt, die, ebenso wie Cocain und Akuammin, die Fähigkeit besitzen, gleichzeitig lokalanästhesierend zu wirken und den Adrenalineffekt zu verstärken. So sei beispielsweise das Spartein genannt, welches bekanntlich nach den Arbeiten von Mercier (13) die blutdrucksteigernde Wirkung des Adrenalins verstärkt und welches nach Guinard und Geley (18) lokalanästhesierend wirkt. Es sei auch auf das Ephedrin hingewiesen, dessen adrenalinpotenzierendes Vermögen (19) gleichfalls von einer lokalanästhesierenden Wirksamkeit begleitet wird (20). Schließlich seien auch das Colchinin (21), die Alkaloide von Gelsemium sempervirens Ait. [Sempervirin (22), Gelsemicin (23) und Gelsemin (24)] sowie das Ibogain (25) erwähnt, deren Fähigkeit, den Adrenalineffekt zu verstärken, von uns entdeckt worden ist, und deren lokalanästhesierende Wirksamkeit für das Colchicin von Ross-

bach (26), für die Alkaloide von Gelsemium sempervirens (das kristallinische und amorphe Gelseminin) von Wiki (27) und ferner für das Ibogain von Lambert (28) bestätigt wurde.

Wir sind nicht der Meinung, daß sämtliche Lokalanästhetica die Eigenschaft besitzen müssen, die Adrenalinwirkung zu verstärken, und wir wissen z. B., daß die hypertensive Wirkung des Adrenalins durch einige Lokalanästhetica, wie das Tropacocain (29) und das l-Pseudocain (Psicain) (29, 30) nicht gesteigert wird. Wir wissen schließlich auch, daß das Yohimbin, welches in geeigneten Dosen die blutdrucksteigernde Wirkung des Adrenalins umkehrt (15) und selbst in schwächsten Dosen diese Wirkung noch herabsetzt (31), trotzdem lokalanästhesierend sehr stark wirkt (32). Wir bestehen auch nicht auf der Meinung, daß sämtliche Stoffe, welche die Adrenalinwirkung steigern, eine auf die Kaninchencornea anästhesierende Wirkung besitzen müssen. So hat beispielsweise Kreitmair (33) konstatieren können, daß dem Echitamin eine solche fehlt, obwohl es, wie wir nachgewiesen haben (34), die blutdrucksteigernde Wirkung des Adrenalins bedeutend verstärkt. Trotz allem glauben wir, daß in vielen Fällen eine unleugbare Korrelation zwischen der adrenalinverstärkenden und der lokalanästhesierenden Wirkung besteht.

Schlußfolgerungen.

1. Auf den Atmungsrhythmus wirkt das Akuammin in den Dosen von 1—8 mg/kg nur leicht verlangsamend.

2. Bei intakten Vagi sowohl als nach doppelter Vagotomie senkt Akuammin den Blutdruck des Hundes schon in der Dosis von 1 mg/kg.

3. Die Amplituden der Darmbewegungen in situ werden durch Akuammin verkleinert.

4. Beim Hund mit beiderseits durchtrennten Vagi verstärkt Akuammin in der Dosis von 7 mg/kg die blutdrucksteigernde Wirkung des Adrenalins. wirkt aber gleichzeitig der Herzverlangsamung entgegen und läßt die Atmungshemmung fortbestehen.

5. Am Hunde mit beiderseits durchtrennten Vagi steigert Akuammin nicht nur die Adrenalinhypertension, sondern auch die durch Adrenalin hervorgerufene Darmhemmung.

6. Auch beim Hund, der unter dem Einfluß von Akuammin steht, verwandeln die Sympathicolytica der Yohimbingruppe die durch mittlere Dosen von Adrenalin hervorgerufene Blutdrucksteigerung in eine Blutdrucksenkung.

7. Selbst nach Dosen von 10 mg/kg schwächt Akuammin wohl die hypotensive Wirkung kleiner Mengen von Dioxyphenyläthanoläthylaminhydrochlorid ab, wandelt dieselbe aber nicht in eine blutdrucksteigernde um.

8. Das Akuammin besitzt lokalanästhesierende Eigenschaften, die denen des Cocains sehr nahe stehen.

9. Obwohl bestimmte Alkaloide mit lokalanästhesierenden Eigenschaften die blutdrucksteigernde Wirkung des Adrenalins nicht verstärken, so scheint es doch, daß sehr häufig zwischen der lokalanästhesierenden Wirkung eines Alkaloids und seiner adrenalinverstärkenden Wirkung Beziehungen bestehen.

Literatur.

1) Holmes, E. M.: Pharmaceut. J. a. Pharmacist **95**, 758 (1915) u. **109**, 478 (1922). — 2) van den Branden, F.: Ann. Soc. belge Med. trop. **10**, 123 (1930). — 3) Henry, T. A., u. T. M. Sharp: J. chem. Soc. **130**, 1950 (1927). — 4) Henry, T. A.: Ebenda **135**, 2759 (1932). — 5) Henry, T. A.: The plant alkaloids 3e edit., 624, London 1939. — 6) Goodson, J. A., T. A. Henry u. J. W. S. Macfie: Biochem. J. **24**, 888 (1930). — 7) Raymond-Hamet: C. R. Acad. Sc. **211**, 125 (1940). — 8) Handowsky, H., u. N. Goormaghtigh: C. R. Soc. Biol. **120**, 74 (1935). — 9) Raymond-Hamet: Ebenda **115**, 512 (1934); Arch. portug. sc. Biol. **4**, 10 (1935). — 10) Loewi, O., u. H. Meyer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **53**, 213 (1905). — 11) Raymond-Hamet: Arch. internat. Pharmacodynam. **51**, 63 (1935). — 12) Fröhlich, A., u. O. Loewi: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **62**, 159 (1910). — 13) Mercier, F.: C. R. Acad. Sc. **185**, 1162 (1927). — 14) Raymond-Hamet: Rev. Pharmacol. (Fr.) **2**, 155 (1931). — 15) Raymond-Hamet: C. R. Acad. Sc. **180**, 2074 (1925). — 16) Raymond-Hamet: C. R. Soc. Biol. **94**, 843 (1926). — 17) Regnier, J.: Influence de la concentration des ions H sur un phénomène physiologique. Anesthésie de la cornée par le chlorhydrate de cocaine. These dr. sc. Paris 1925. — 18) Guinard, L., u. G. Geley: C. R. Soc. Biol. **46**, 583 (1894). — 19) Launoy, L., et P. Nicolle: Ebenda **99**, 198 (1928); Csepai, K., u. F. Doleschall: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **134**, 109 (1928); Schaumann, O.: Ebenda **138**, 208 (1928). — 20) Kochmann, M.: Klin. Wschr. **10**, 408 (1931); Misgeld u. Kreitmair ex J. Misgeld: Klin. Wschr. **10**, 789 (1931) u. Schmerz usw. **6**, 33 (1933). — 21) Raymond-Hamet: C. R. Soc. Biol. **118**, 1292 (1935). — 22) Raymond-Hamet: Ebenda **126**, 690 (1937). — 23) Raymond-Hamet: Ebenda **126**, 1151 (1937). — 24) Raymond-Hamet: C. R. Acad. Sc. **205**, 1449 (1937). — 25) Raymond-Hamet: C. R. Soc. Biol. **133**, 426 (1940). — 26) Gerhardt, nach M. J. Rossbach: Pflügers Arch. **12**, 325 (1876). — 27) Wiki, B.: Contribution a l'étude pharmacodynamique des alcaloïdes du Gelsemium sempervirens. Thése dr. méd. Genéve **1900**, 109—110 u. 142. — 28) Lambert, M.: Arch. internat. Pharmacodynam. **10**, 114—115 (1902). — 29) Tainter, M. L.: Quart. J. Pharmacy a. Pharmacol. **3**, 594 (1930). — 30) Mercier, F.: C. R. Acad. Sc. **193**, 883 (1931). — 31) Raymond-Hamet: Ebenda **198**, 977 (1934). — 32) Arnold, C., u. M. Behrens, Chem. Ztg. **1901**, 1083; Magnani: La Clinica moderna (I.), **8**, 413 (1902); Raymond-Hamet: C. R. Soc. Biol. **118**, 774 (1935). — 33) Kreitmair, H.: Brief vom 14. Juni 1934. — 34) Raymond-Hamet: C. R. Acad. Sc. **209**, 1013 (1939).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Würzburg.

Beeinflussung der Auswertung von Digitalisstoffen durch Alkohol (Versuche mit Gitoxigenin und Gitoxin).

Von

W. Neumann und R. Walther.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 26. Februar 1942.)

Bei der Auswertung von Digitalisstoffen an Katzen mit der Methodik von Hatcher bzw. de Lind van Wijngaarden können bekanntlich äußere Bedingungen von Einfluß auf das Ergebnis sein, u. a. das gewählte Narkoticum. In einzelnen Fällen, wo schwer lösliche Stoffe zu untersuchen sind, liegt besonders in der Mitwirkung zugesetzter organischer Lösungsmittel eine Fehlerquelle. Im folgenden berichten wir in diesem Zusammenhang über Erfahrungen mit Gitoxigenin und Gitoxin, die uns aus methodischen Gründen, aber auch wegen einiger Folgerungen für die vergleichende Betrachtung der verschiedenen herzwirksamen Aglucone und ihrer Derivate nicht ohne Interesse erscheinen.

I. Versuche mit Gitoxigenin.

Bei Infusion einer Gitoxigeninlösung 1 : 5000 mit 20% Alkohol in leichter Äthernarkose fanden wir bei 10 Versuchen für die Katzeneinheit einen Durchschnittswert von 3,194 mg/kg (R. Walther[1]), von dem die von Fromherz und Welsch[2] angegebene Dosis von 0,76 mg/kg erheblich abweicht. Auch der von Rothlin[3] gefundene Wert liegt mit 1,850 mg/kg beträchtlich niedriger.

Schon vor einer Reihe von Jahren hatte der eine von uns im Rahmen anderer Untersuchungen mit einer Gitoxigeninlösung 1 : 5000 mit 5—10% Alkohol in 7 Versuchen bei einem mittleren Tiergewicht von 2.45 kg und einer mittleren Infusionsdauer von 32 Minuten für die Katzeneinheit durchschnittlich 3,06 mg/kg gefunden. Später stellte sich bei kolorimetrischer Überprüfung derartiger Lösungen mit Hilfe der Baljet-Reaktion[4] heraus, daß aus diesen Lösungen nach einiger Zeit Gitoxigenin auskristallisieren kann, was zunächst mit bloßem Auge nicht erkennbar ist. Es wäre also möglich, daß bei diesen älteren Versuchen die auffallend hohe Dosis zum Teil durch ein Auskristallisieren und durch die damit verbundene Abnahme der Wirksamkeit vorgetäuscht worden

[1] Walther, R.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 202 (1940). — [2] Ebenda **161**, 266 (1931). — [3] Schweiz. med. Wschr. **1938**, S. 1336. — [4] Methodik nach Neumann, W.: Z. physiol. Chem. **240**, 241 (1936).

wäre. Bei den oben erwähnten Versuchen mit Lösungen, die 20% Alkohol enthielten, konnten wir jedoch mit der Baljet-Reaktion feststellen, daß diese Lösungen während der Versuchsdauer ihren Gehalt nicht geändert hatten, so daß hier die Möglichkeit von Täuschungen durch teilweises Auskristallisieren ausgeschlossen war.

Die Ursache der unterschiedlichen Ergebnisse der verschiedenen Untersucher war weniger bei den benutzten Präparaten zu suchen, da das Gitoxigenin ein wohldefinierter und leicht zu reinigender Stoff ist. Sie mußte vielmehr in Einzelheiten der jeweils angewandten Methodik liegen, wobei in erster Linie an die Lösungsmittel zu denken war. Die erwähnte Arbeit von Fromherz und Welsch enthält keine Einzelheiten über die Zusammensetzung der benutzten Gitoxigeninlösung. Herr Prof. Fromherz[5] teilte uns auf Anfrage jedoch mit, daß er eine Lösung 1:20000 mit 30% Alkohol verwendete.

Da eine Klärung der Zusammenhänge von grundsätzlicher Bedeutung erschien, haben wir ebenfalls Versuche mit einer Gitoxigeninlösung 1:20000 in physiologischer Kochsalzlösung bei 30% Alkoholzusatz durchgeführt, die in Tabelle 1 zusammengestellt sind und bei denen in der früher[1] geschilderten Weise während der Infusion laufend Elektrokardiogramme aufgezeichnet wurden. Unter Einrechnung eines extrem niedrigen Wertes (Nr. 3 der Tabelle 1) ergab sich ein Durchschnittswert von 0,738 mg/kg, der mit dem von Fromherz und Welsch gefundenen von 0,76 mg/kg praktisch übereinstimmt.

Tabelle 1. Infusion von Gitoxigenin 1:20000 in physiologischer Kochsalzlösung mit 30% Alkoholzusatz (Versuche an Katzen).

Laufende Nr.	Tier-Gewicht kg	Dosis mg/kg	Dauer Minuten	Dissoziation bei %	Dissoziation bei mg/kg
1	2,05	0,807	27,7	68	0,549
2	1,60	1,090	45,0	60	0,655
3	2,30	0,243	10,0	40	0,097
4	2,30	0,748	45,2	37	0,276
5	2,40	0,846	37,2	25	0,210
6	2,00	0,725	23,3	47	0,341
7	2,45	0,708	35,3	77	0,545
Durchschnitt	2,15	0,738	32,0	51	0,382

Bei diesen Versuchen fiel jedoch auf, daß die Tiere bei unregelmäßiger und immer flacher werdender Atmung zugrunde gingen, ohne daß die für eine Digitalisvergiftung typischen terminalen Krampferscheinungen auftraten. In allen Versuchen war dabei einwandfrei zu beobachten, daß die Herztätigkeit erst einige Minuten nach dem Atemstillstand aufhörte. In einigen Fällen zeigten die Tiere ein besonders bemerkenswertes Ver-

[5] Herrn Prof. Fromherz danken wir auch an dieser Stelle bestens für seine freundliche Unterstützung.

halten. Bei Versuch Nr. 5 trat während der Infusion zweimal unter maximaler Erweiterung der Pupillen Atemstillstand über mehrere Minuten ein, wobei die Herzpulsationen kaum noch wahrzunehmen waren. Obwohl die Infusion nicht unterbrochen wurde, kam jedoch nach einigen Minuten die Atmung erneut in Gang, die Pupillen verengten sich und das Herz zeigte wieder kräftige Pulsationen. In einem weiteren, in der Tabelle nicht verzeichneten Versuch schien nach Infusion von 0,708 mg/kg Gitoxigenin der Atemstillstand endgültig zu sein; die Pupillen waren maximal erweitert, Herzbewegungen waren nicht mehr wahrnehmbar. Der Versuch wurde deshalb abgebrochen und das Tier vom Operationstisch entfernt. Nach einigen Minuten traten jedoch einzelne schnappende Atemzüge vom Typ der spinalen Atmung auf, dann wurde die Atmung regelmäßig, und das Tier erholte sich schließlich vollständig.

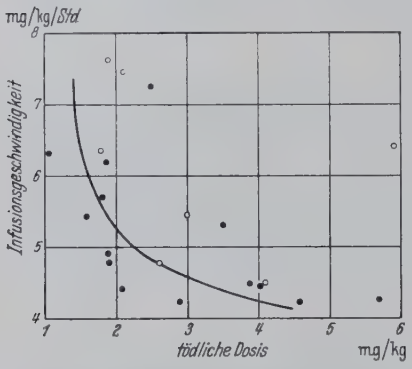


Abb. 1. Gitoxigenin. Abhängigkeit der tödlichen Dosis von der Infusionsgeschwindigkeit; 0 = ältere Versuche (vgl. Text).

Ließen schon diese Beobachtungen einen wesentlichen Einfluß der relativ hohen Alkoholbeimengung vermuten, so ergab sich dieser auch beim Vergleich der während der Infusion aufgenommenen Elektrokardiogramme mit den für Gitoxigenin in 20%igem Alkohol früher beschriebenen Veränderungen. Sie zeigten zwar im wesentlichen ebenfalls die für die Digitaliswirkung typischen Veränderungen, jedoch wies ihr zeitlicher Ablauf, vor allem unter Bezugnahme auf den jeweiligen Prozentsatz der „tödlichen Dosis", deutliche Abweichungen von den früheren Versuchen auf. Wird das Gitoxigenin in einer Lösung 1 : 5000 in 20%igem Alkohol infundiert, so ist die AV-Dissoziation bereits bei durchschnittlich 21% der Dosis letalis vorhanden [1]. Bei unseren Versuchen mit einer Lösung 1 : 20000 mit 30% Alkoholzusatz war dagegen dieser Zustand erst nach Infusion von durchschnittlich 51% der Dosis letalis zu erkennen, wobei die Einzelwerte von 25–68% der Dosis letalis schwankten. Auch die Sinusfrequenz zeigte bei beiden Versuchsgruppen ein unterschiedliches Verhalten. Zwar waren die in den einzelnen Versuchen beobachteten Höchstwerte der Bradykardie in beiden Reihen praktisch gleich. Bei Verwendung von 30%igem Alkohol erreichte aber die Sinusbradykardie ihr Maximum erst in der zweiten Hälfte der Infusion bzw. erst gegen deren Ende, während in den früher beschriebenen Versuchen mit 20% Alkohol der Höhepunkt bereits bei einem Durchschnittswert von 31% der Dosis letalis lag.

Auch bezüglich der Frequenz des Kammereigenrhythmus kurz vor dem Herzstillstand war ein Unterschied festzustellen. Bei Verwendung von 30%igem Alkohol zeigte sie nämlich nicht die in der Versuchsreihe mit 20%igem Alkohol beobachtete terminale Beschleunigung, blieb vielmehr stets unter der Ausgangsfrequenz.

Die letale Dosis lag bei den früher [1] berichteten Versuchen mit einer Lösung 1 : 5000 in 20% Alkohol im allgemeinen bei geringerer Infusionsgeschwindigkeit etwas höher. Diese Abhängigkeit geht noch deutlicher aus der vorstehenden Abbildung hervor, in welcher neben den 10 früher mitgeteilten noch einige Versuche mit höherer Infusionsgeschwindigkeit verzeichnet sind. Bei den letzteren relativ kurzdauernden Versuchen mußte auf Aufzeichnung und Auswertung von Elektrokardiogrammen verzichtet werden. Weiterhin sind in die Abbildung die oben erwähnten 7 älteren Versuche aufgenommen, bei denen wegen des niedrigeren Alkoholgehaltes der Lösung ein teilweises, wenn auch makroskopisch noch nicht erkennbares Auskristallisieren des Gitoxigenins möglich war. In der Tat erscheinen diese älteren Werte durchweg etwas nach rechts, also im Sinne einer höheren Dosis letalis, verschoben. Im übrigen schließen sie sich aber dem allgemeinen Verlauf der Durchschnittskurve der neueren Versuche an. Die Streuung der Einzelwerte war in beiden Versuchsreihen erheblich.

II. Versuche mit Gitoxin.

Die Katzeneinheit des Gitoxins beträgt nach Fromherz und Welsch [2] 0,59 mg pro kg, wenn eine Gitoxinlösung 1 : 20000 mit 30% Alkohol und 0,5% Pyridin infundiert wird. Neumann und Lindner [6] fanden 0,75 mg/kg. Dieser Wert ergab sich aus 4 Versuchen, die wir in Tabelle 2 kurz aufführen.

Tabelle 2. Katzeneinheit des Gitoxins. (Methodik siehe Text.)

Laufende Nr.	Tier-Gew. kg	Dauer Minuten	Dosis mg/kg
1	1,70	38	0,84
2	2,25	35	0,78
3	1,65	29	0,68
4	2,80	34	0,71
Mittel	2,10	34	0,75

Das Gitoxin ist noch schwerer löslich als sein Genin. Selbst die Herstellung einer Stammlösung 1 : 2000 in Alkohol ist nur durch Kochen am Rückflußkühler möglich. Verdünnt man eine derartige Lösung für die Infusion mit Kochsalzlösung, so tritt leicht Kristallbildung ein. Macht man die Lösung durch weiteren Alkoholzusatz haltbar, so sind dafür derart große Mengen Alkohol notwendig, daß dessen Wirkung bei der Infusion völlig in den Vordergrund tritt. Daher wurde bei den Versuchen der Tabelle 2 eine besondere Anordnung gewählt, um das Auskristallisieren nach Möglichkeit zu verhindern. In eine Schenkelvene der in leichter

[6] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **185**, 630 (1937).

Äthernarkose liegenden Katze wurde eine Kanüle eingebunden, die durch einen dünnen Gummischlauch mit einer Hahnbürette verbunden war, welche physiologische Kochsalzlösung enthielt. Kurz vor der Kanüle wurde in den Schlauch die Nadel einer Rekordspritze eingestochen, die mit einer alkoholischen Gitoxinlösung 1 : 2000 gefüllt war. In regelmäßigen Abständen, die je nach dem Tiergewicht 25—40 Sekunden betrugen, wurden dann auf ein gegebenes Zeichen 0.05 ccm der Gitoxinlösung in den Schlauch gespritzt, während gleichzeitig eine Hilfsperson 1 ccm Kochsalzlösung aus der Bürette einlaufen ließ. Die Einspritzung in den Schlauch erfolgte etwas schneller als das Einfließen der Kochsalzlösung, so daß anzunehmen war, daß nach Beendigung der Einspritzung das Schlauchstück und die Kanüle noch mit Kochsalzlösung durchspült wurden, also hier kein nennenswerter Verlust durch Auskristallisieren eintreten konnte.

III. Besprechung.

Bei der Auswertung von Digitalisstoffen ist oft ein erheblicher Alkoholgehalt der Lösungen nicht zu umgehen. Schon aus Versuchen von Heubner und v. Nyáry [7] an den gegenüber Digitalisstoffen recht resistenten Ratten geht hervor, daß die erforderlichen Alkoholmengen einen sehr beträchtlichen Prozentsatz der tödlichen Alkoholdosis erreichen können und daß überdies diese Dosis um so geringer ist, je schneller infundiert wird. Neumann und Lindner [6] konnten an Ratten die Auswertung von Desazetyloleandrin überhaupt nicht durchführen, weil die dazu benötigte Menge des Lösungsmittels, das 40% Alkohol und 15% Glycerin enthielt, für sich schon tödlich wirkte.

An Katzen ist zwar, worauf auch Fromherz und Welsch [2] hinweisen, die narkotische Wirkung des Alkohols erfahrungsgemäß in vielen Fällen belanglos. Unsere Versuche mit Gitoxigeninlösungen verschiedener Konzentration und verschiedenen Alkoholgehaltes zeigen jedoch, daß man den Einfluß dieses organischen Lösungsmittels auf den Verlauf derartiger Versuche nicht unterschätzen darf.

In einer Versuchsreihe (Lösung 1 : 20000 mit 30% Alkohol) wurden dabei im Durchschnitt 8,3 ccm Alkohol je kg und Stunde infundiert, bis zum Tode des Tieres 4,56 ccm/kg. Bei früheren Versuchen [1] (Lösung 1 : 5000 mit 20% Alkohol) betrug dagegen die Infusionsgeschwindigkeit 4.55 ccm/kg/Std., die infundierte Gesamtmenge durchschnittlich 3,194 ccm pro kg.

Bei den Versuchen mit Gitoxigenin 1 : 20000 mit 30% Alkohol wurde also nicht nur eine um rund 40% höhere Gesamtmenge Alkohol gegeben, sondern diese Infusion erfolgte noch dazu mit einer um rund 80% höheren Geschwindigkeit. Unter Berücksichtigung der oben erwähnten Befunde von Heubner und v. Nyáry [7] ist es verständlich, daß unter derart

[7] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **177**, 60 (1935).

erschwerten Bedingungen der Einfluß des Alkohols schon äußerlich erkennbar war. Gegen Ende der Versuche traten Störungen der Atemtätigkeit auf, die sonst bei der Digitalisvergiftung zu fehlen pflegen, und schließlich erfolgte der Tod durch Atemlähmung, während die Herztätigkeit noch einige Zeit fortdauerte. Dagegen verläuft die Infusion von Gitoxigenin 1 : 5000 in 20% Alkohol (R. Walther[1]) unter den charakteristischen Erscheinungen einer Digitalisvergiftung.

Das Elektrokardiogramm zeigt bei den letzterwähnten Versuchen Veränderungen, die völlig den bei Infusion von Digitoxigenin (R. Walther[8]) auftretenden parallel gehen. Wird aber das Gitoxigenin in einer Lösung 1 : 20000 mit 30% Alkohol zugeführt, so fällt besonders auf, daß die bei der Gitoxigeninwirkung zu erwartende terminale Beschleunigung des Kammereigenrhythmus völlig ausbleibt. Diese Beobachtung ist ebenfalls dahin zu deuten, daß bei gleichzeitiger Herabsetzung der Gitoxigeninkonzentration die Verwendung des 30%igen Alkohol als zusätzliche Schädigung den Tod verfrüht herbeiführt und damit eine zu kleine „Dosis letalis" vortäuscht. Auch die AV-Dissoziation und ebenso das Maximum der Sinusbradykardie treten dadurch scheinbar verspätet bzw. bei einem höheren Prozentsatz der „tödlichen Dosis" hervor. Vergleicht man aber die Mengen Gitoxigenin, die z. B. beim Auftreten der AV-Dissoziation durchschnittlich infundiert waren, so ergibt sich umgekehrt für die in Tabelle 1 zusammengefaßten Versuche (Lösung 1 : 20000 mit 30% Alkohol) mit 0,38 mg/kg ein niedrigerer Wert als bei den früheren Versuchen (Lösung 1 : 5000 mit 20% Alkohol) mit 0,67 mg/kg.

Bei schnellerer Infusion einer höheren Alkoholmenge erscheint also die zur Dissoziation führende Menge Gitoxigenin zu klein. Es liegt nahe, auch hier eine Mitwirkung des Alkohols anzunehmen, obgleich eine direkte und im gleichen Sinne wie die Digitaliswirkung verlaufende Beeinflussung des Elektrokardiogramms durch den Alkohol wenig wahrscheinlich ist. Nicht übersehen werden darf, daß in beiden Versuchsreihen auch das Gitoxigenin mit stark verschiedener Geschwindigkeit einfloß. Die Infusionsgeschwindigkeit betrug bei den Versuchen der Tabelle 1 durchschnittlich 1,38 mg Gitoxigenin je kg und Stunde, bei den früheren Versuchen dagegen 4,55 mg kg Std. Wie sich dies im einzelnen im EKG auswirkt, könnte nur beurteilt werden, wenn man in vergleichenden Versuchen das Gitoxigenin mit wechselnder, den Alkohol aber mit gleicher Geschwindigkeit infundieren würde. Zur Erklärung der Abweichungen wäre schließlich auch noch an Unterschiede der Eliminationsgeschwindigkeit in Abhängigkeit von der Schnelligkeit der Zufuhr zu denken.

Einstweilen darf man unter Verzicht auf Klärung aller Einzelheiten feststellen, daß sowohl der äußere Ablauf der Vergiftung als auch die Entwicklung der elektrokardiographischen Veränderungen, insbesondere

[8] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**, 710 (1940).

das Ausbleiben der terminalen Beschleunigung des Kammereigenrhythmus, eindeutig darauf hinweisen, daß man bei Infusion von Gitoxigenin 1 : 20000 mit 30% Alkohol, wie sie von Fromherz und Welsch durchgeführt und von uns mit praktisch gleichem Ergebnis wiederholt wurde, die Katzeneinheit zu niedrig findet. Andererseits erscheint es aber möglich, daß auch der mit einer Lösung 1 : 5000 in 20% Alkohol gefundene Durchschnittswert von 3,194 mg/kg noch durch Alkoholwirkungen beeinflußt ist, wenn auch hier durch Kontrollversuche festgestellt ist, daß die in Frage kommenden Alkoholmengen die Tiere — abgesehen von narkotischen Erscheinungen — nicht merklich schädigen und insbesondere das EKG unbeeinflußt lassen.

Die gefundene Katzeneinheit hängt außerdem von der durchschnittlichen Infusionsgeschwindigkeit ab. Sie nimmt, wie die Abbildung S. 414 erkennen läßt, mit sinkender Infusionsgeschwindigkeit stark zu, und gleichzeitig wird die Streuung der Einzelwerte beträchtlicher. Auch hierin liegt eine Parallelität zum Verhalten des Digitoxigenins, wo Versuche von Mehnert [9] eine gleiche Abhängigkeit zwischen tödlicher Dosis bzw. Streuung und der Infusionsgeschwindigkeit erkennen lassen.

Der oben erwähnte, von Rothlin [3] für die Katzeneinheit des Gitoxigenins genannte Wert von 1,850 mg/kg wurde mit einer Lösung 1 : 25000 bei einer Infusionsdauer von 46 Minuten je kg ermittelt. Nach unseren Untersuchungen ist er vermutlich ebenfalls durch das benutzte organische Lösungsmittel beeinflußt und dadurch zu niedrig. Vor allem fällt hier eine Diskrepanz zwischen dem relativ niedrigen Wert und der hohen Versuchsdauer auf. Letztere würde z. B. für eine Katze von 2,0 kg durchschnittlich über $1^1/_2$ Stunden betragen, die Infusionsgeschwindigkeit nur 1,2 mg/kg/Std. Nach der Kurve der Abbildung S. 414 wäre dabei eine erheblich höhere Dosis zu erwarten, falls nicht überhaupt diese Infusionsgeschwindigkeit schon unter der kritischen Infusionsgeschwindigkeit im Sinne von Heubner und v. Nyáry [7] liegt, also überhaupt keine echte tödliche Dosis mehr liefern kann. Wieweit im einzelnen Alkohol oder andere organische Lösungsmittel bei den Versuchen von Rothlin eine Rolle spielen, läßt sich nicht übersehen, da wir über die nähere Zusammensetzung der dabei benutzten Lösung leider nichts in Erfahrung bringen konnten.

Beim Gitoxin ist der Unterschied zwischen der aus Tabelle 2 abzuleitenden Katzeneinheit von 0,75 mg/kg und dem von Fromherz und Welsch [2] genannten Wert von 0,59 mg/kg nicht sehr beträchtlich. Als Lösungsmittel sind im ersten Falle je kg Tiergewicht 1,5 ccm Alkohol, bei den Versuchen von Fromherz und Welsch dagegen je kg 3,54 ccm Alkohol und außerdem 0,059 ccm Pyridin beteiligt. Es ist zwar anzunehmen, daß eine zusätzliche Schädigung durch das benutzte Lösungsmittel bei nur 1.5 ccm Alkohol je kg am geringsten ist. Man darf aber nicht ohne weiteres

[9] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **184**, 188 (1937).

folgern, daß auch die dabei gefundene Katzeneinheit von 0,75 mg/kg „richtiger" wäre. Einmal liegen hierfür keine besonderen Anhaltspunkte vor, und außerdem könnte eingewendet werden, daß die stoßweise Infusion nicht ohne weiteres mit einem gleichmäßigen Einfließen vergleichbar ist und daß dabei auch Verluste durch Auskristallisieren während der einzelnen Stöße denkbar sind, die eine höhere Katzeneinheit vortäuschen könnten. Zur Zeit erscheinen diese Einzelfragen nicht von so großer Bedeutung, daß man ihnen entsprechende Versuchsreihen widmen müßte. Wenn also im Falle des Gitoxins der Einfluß der verschiedenen Lösungsmittel auf die gefundenen Werte nicht völlig geklärt ist, so darf man doch schließen, daß die hier eingehaltene Arbeitsweise eine Auswertung von praktisch ausreichender Genauigkeit bei einem relativ geringen Alkoholverbrauch gestattet. Außerdem geben die Versuche erneut ein Beispiel dafür, daß bei der Auswertung von Digitalisstoffen an der Katze die Ergebnisse von Einzelheiten der Arbeitsweise abhängig sind.

Die oben S. 415 näher geschilderte Methode für die Auswertung schwer löslicher Digitalisstoffe ist vielleicht auch in anderen Fällen anwendbar. Unabhängig von den hier mitgeteilten Versuchen sind übrigens auch Chen und Mitarbeiter [10] zu einem ganz ähnlichen Verfahren gelangt. Sie werteten Scillaridin A aus, indem sie in Abständen von 30 Sekunden aus einer Bürette 0,1 ccm einer Lösung 1 : 2000 in Methylalkohol und unmittelbar anschließend aus einer zweiten über einen Dreiweghahn angeschlossenen Bürette 1 ccm Kochsalzlösung einfließen ließen. Dabei ist es unvermeidlich, daß in dem Hahn zeitweise kleine Mengen der Lösung zurückbleiben, die bereits mit Kochsalzlösung verdünnt sind und daher Kristalle ausscheiden können. Gegenüber dieser Arbeitsweise möchten wir — ganz abgesehen von der Verwendung von Methylalkohol — der von uns geübten Injektion einer alkoholischen Lösung direkt in die einfließende Kochsalzlösung den Vorzug geben.

Mit einer Katzeneinheit von durchschnittlich etwa 3,2 mg/kg ist das Gitoxigenin erheblich weniger wirksam als bisher angenommen wurde. Damit verschiebt sich für dieses Aglucon auch das Verhältnis der Wirksamkeit bei peroraler und bei intravenöser Verabreichung. Die peroral tödliche Dosis beträgt nach Fromherz und Welsch [2] an der dekapitierten Katze etwa 1600%, nach van Esveld [11] an der decerebrierten Katze etwa 1000% der Katzeneinheit, die in beiden Fällen zu 0,76 mg/kg angenommen wurde. Setzt man für die letztere Zahl den jetzt gefundenen rund viermal höheren Wert ein, so berechnet sich eine peroral tödliche Dosis von rund 250—400% der Katzeneinheit. Die Wirksamkeit des Gitoxigenins bei Verabreichung in den Magen erscheint damit jetzt etwas höher als die des Digitoxigenins, für das Fromherz und Welsch 800%,

[10] Chen, K. K., E. Brown Robbins u. H. Worth: J. amer. pharmaceut. Assoc. **27**, 189 (1938). [11] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **184**, 455 (1937).

van Esveld etwa 600% der Katzeneinheit als vom Magen-Darmkanal aus tödliche Dosis ermittelten.

Die Feststellung einer relativ geringen Wirksamkeit des Gitoxigenins an der Katze beeinflußt auch die vergleichende Betrachtung der einzelnen Stoffe der Gitoxigenin-Gitoxin-Gruppe, wie sie früher (Neumann und Lindner[6]) unter Zugrundelegung äquimolarer Verhältnisse durchgeführt wurde. Der Abstand zwischen der Wirksamkeit des Genins und der seiner verschiedenen bekannten Glykoside stellt sich damit als wesentlich größer heraus als er bisher erschien. Die relative Wirksamkeit in dem früher definierten Sinne beträgt dann bei Infusion an der Katze z. B. beim Gitoxin und Digilanid B nicht nur 2,4 bzw. 5,5, sondern 10.0 bzw. 23.4 und steigt auch in der Reihe der Oleanderstoffe beim Desazetyloleandrin und Oleandrin auf 14,1 bzw. 19,5, beim Oleandrigenin auf 14.1. Diese Zahlen sind wesentlich höher als die entsprechenden Werte bei Abkömmlingen anderer Genine. Das Gitoxigenin zeichnet sich damit vor den anderen bekannten Agluconen der Digitalisgruppe dadurch aus, daß bei ihm Glykosidbildung oder Veresterung zu einer besonders starken Steigerung der Grundwirkung führen.

IV. Zusammenfassung.

Bei der Auswertung schwer löslicher Digitalisstoffe führt unter Umständen das Lösungsmittel zu zusätzlichen Schädigungen und läßt dadurch die Katzeneinheit zu niedrig erscheinen. An Versuchen mit Gitoxigenin wird gezeigt, daß bei höherem Alkoholgehalt dessen Wirkungen im Vergiftungsbild stark hervortreten, während die elektrokardiographischen Veränderungen Abweichungen von dem zu erwartenden charakteristischen Verlauf zeigen.

Am Beispiel des Gitoxins wird eine Arbeitsweise beschrieben, die auch bei sehr schwer löslichen Stoffen mit relativ geringen Alkoholmengen eine Auswertung von praktisch ausreichender Genauigkeit ermöglicht.

Die Katzeneinheit des Gitoxigenins ist wesentlich höher anzusetzen als bisher angenommen wurde. Damit tritt das Gitoxigenin in der Reihe der herzwirksamen Aglucone dadurch hervor, daß bei ihm die durch Glykosidbildung oder Veresterung eintretende Steigerung der Grundwirkung am stärksten ausgeprägt ist.

Aus dem Pharmakologischen Laboratorium der chem.-pharm. Fabrik „Kaštel" A.-G. und der Inneren Abteilung des Spitals der Barmherzigen Schwestern, Zagreb.

Beitrag zur Kenntnis der Wirkung herzaktiver Glykoside.

Von

P. Stern und **R. Balzer.**

(Eingegangen am 21. Februar 1942.)

Es ist nun schon fast 100 Jahre her, daß Traube (1) auf das zwischen Digitalis und Vagus bestehende Verhältnis hinwies. Er war der erste, der eine Digitaliswirkung über das parasympathische Nervensystem deutete. Zahlreich sind die Theorien der Pharmakodynamik der herzaktiven Glykoside, aber fast alle haben zur einheitlichen Charakteristik, daß sie die Digitaliswirkung ganz oder wenigstens teilweise über den Vagus deuten, sei es zentral oder peripher. Viele Autoren (1) beobachten, daß bei digitalisierten Tieren durch Reizung der peripheren Endstücke des durchschnittenen Vagus eine erhöhte Empfindlichkeit des Parasympathikus erfolgte.

Wenn wir heute vom Vagus bzw. von einer Wirkung über den Vagus sprechen, so haben wir eine klarere Vorstellung davon, wie sich der Prozeß der Vagusfunktion abspielt. Nach den fundamentalen Arbeiten Löwy und Daleas über die humorale Übertragung vom Nerv auf den Muskel wissen wir, daß der Vagus eine Substanz ausscheidet, die eigentlich der Ausdruck seiner Wirkung ist. Heute kennen wir diesen „Vagusstoff" als Azetylcholin. Es ist nicht notwendig, dabei auf die Pharmakodynamik des Azetylcholins einzugehen, aber einige Momente muß man dennoch hervorheben, wenn man vom Verhältnis des cholemimetischen Apparates, der das Azetylcholin ausscheidet, zum Herzen spricht. Viele Autoren betonen, daß die Digitaliswirkung auf den Vagus eigentlich die „Urwirkung" auf das Herz sei und daß jede Manifestation auf das Herz von Digitalis als eine Digitaliswirkung auf den Vagus gedeutet werden kann. Der Vagus ist der assimilatorische Nerv des Herzens. Unter seinem Einfluß spart das Herz Sauerstoff und schafft Reserven von Glykogen. Den Mechanismus dieser Wirkung speziell auf das Herz, erklärte in seinen hervorragenden Abhandlungen Gremels (2) mit seinen Mitarbeitern. Besonders behandelte er die Frage der Bedeutung des vegetativen Systems für den Metabolismus der Kohlenhydrate im Herzmuskel. Azetylcholin ist ein Potentialstoff, d. h. daß seine Wirkung nicht von der absoluten in den Organismus eingeführten Menge abhängt, sondern vom Potential der Spannung, die am Wirkungsort infolge der Veresterung des Azetylcholins (ACH) im Zellinnern entsteht. Gremels zeigte, daß das Herz den Blutzucker nicht

direkt verwerten kann, sondern es muß ihn vorerst mittels Insulin in Glykogen umwandeln, worauf dann das Adrenalin das Glykogen zu energetischen Zwecken auswertet. Das Insulin kann indessen ohne Gegenwart ACH nicht wirken. Falls der eine oder der andere Faktor fehlt, kommt es vorerst zu einer sogenannten energetischen Insuffizienz und schließlich zu einer dynamischen. Es ist sonach das ACH bzw. der Vagus, welcher es produziert, für die Herzaktion von entscheidender Wichtigkeit. Falls der Vagus zu funktionieren aufhört, d. h. falls er nicht mehr genügend ACH produziert, arbeitet das Herz auf Rechnung seiner Reserven, die sich aber in der Regel rasch verbrauchen.

Es entsteht nun die Frage, wie wirkt eigentlich Digitalis auf den Vagus. Ob über das Vaguszentrum in der Medulla oblongata oder peripher. Wir erwähnten schon einige Autoren, die zeigten, daß eine periphere Digitaliswirkung besteht. Es wurden auch Versuche angestellt, die dafür sprechen, daß die Herzglykoside über das Vaguszentrum wirken [Green und Peeler (1), Kochmann (3)]. Heute vertreten wir den Standpunkt, daß das Digitalis auf den Herzmuskel direkt über die Vagusendungen und über den pressorezeptoren Apparat einwirkt, der durch den Blutdruckanstieg im Gehirn gereizt wird. Eine beginnende Bradykardie infolge Digitalisierung, welche gerade infolge des erhöhten Blutdruckes im Gehirn über die Pressorezeptoren entsteht, kann durch Atropin beseitigt werden [Gremels (4)]. Für uns ist es besonders wichtig, daß es außer Zweifel steht, daß der cholemimetische Apparat durch Herzglykoside sensibilisiert wird. Kull (5) zeigte, daß im Herzen nach Straub die Azetylcholinmenge unter Einfluß von Strophantin erhöht wird. Gremels indes hebt noch einen wichtigen Faktor hervor, nämlich, daß die Herzglykoside die Permeabilität der Membrane der Herzmuskelzellen vermindern und hierdurch die Potentialspannung für ACH erhöhen, der Vagotonus wird also erhöht. Gremels sagt in seiner Monographie „Über Potentialstoffe" (6): „es liegt ja in der Membranpassage das Wirkungswerden für einen Potentialstoff begründet". Diese Funktion unterhalten unter normalen Verhältnissen die Gallensäuren [Rein (7)], die ja, wie bekannt, chemisch den Herzglykosiden sehr ähnlich sind. Gremels kam auf Grund dieses Faktors der Digitaliswirkung auch zu einigen wichtigen Schlüssen für die Klinik des Digitalis. Er glaubt beispielsweise, daß es bei einer Myodegeneratio cordis ebenso zu Störungen in der Entstehung der Potentialspannung des ACH kommen kann, da die Oberfläche der Herzmuskelzellen beschädigt erscheinen. Hierdurch wird die Permeabilität der Membrane erhöht und die Potentialspannung für das ACH vermindert, so daß es zu keinem hinreichenden Vagotonus kommt — es entfällt der assimilatorische Faktor und der dissimilatorische kommt zum Ausdruck. Gerade dieser Moment der Herzglykosidwirkung auf die Zelloberfläche interessierte uns speziell im Zusammenhang mit dem Versuch, den Méhes (8) durchführte.

Wir wissen, daß Digitalis mit Tauben nach Hanslik (9) titriert werden kann. Méhes zeigte, daß Beri-Beri-Tauben Digitalis gegenüber weniger empfindlich sind als normale. Man braucht also eine größere Dosis beim Titrieren. Dies vermerkte schon Wenkebach (10) bei Menschen, die an einer B_1-Avitaminose litten. Um dies im Zusammenhang mit der Digitaliswirkung auf die Zellmembrane zu erklären, müssen wir auf die Arbeiten von Brücke und Sarkander (11) (12) hinweisen. Brücke stellte die Hypothese auf, daß es bei einer B_1-Avitaminose zu keiner genügenden Produktion von ACH kommt, da wie bekanntlich bei B_1-Avitaminose die Brenztraubensäure nicht verbrennt, die unter normalen Verhältnissen in Essigsäure, Milchsäure und CO_2 zerfällt. Die Aneurinphosphorsäure, also die Cocarboxylase, ist der Katalysator dieses Prozesses. Die Essigsäure, welche bei der Verbrennung der Brenztraubensäure entsteht, sollte sonach der Donator des Cholins sein, damit es zur Entstehung des ACH kommt. Deshalb kommt es also bei einem Mangel von B_1-Vitamin zu keiner Produktion von ACH, weil dem Cholin die notwendige Menge Essigsäure nicht zur Verfügung steht*. Man könnte sonach den Versuch Méhes folgendermaßen veranschaulichen: Infolge einer zu geringen Produktion von ACH ist eine größere Dosis Digitalis notwendig, um eine derartige Potentialspannung hervorzurufen, daß es zum Abschluß der Titrierung kommt. Und das ist bei den Tauben der Erbrechungsreflex. Man muß also die Permeabilität der Zellmembran stark vermindern, damit man mit einer kleineren Dosis ACH denselben Effekt hervorrufen kann. Selbst Méhes, der die Verminderung der Empfindlichkeit des Digitalis erklärt, glaubt, daß im Organismus infolge des Mangels an B_1-Vitamin eine derartige Veränderung entsteht, daß die Zellen das injizierte Digitalis nicht absorbieren können, oder daß deren reaktive Fähigkeit verändert wird. Er selbst aber betont, daß bei Beri-Beri-Erkrankungen sowohl des Menschen als auch der Tauben eine starke Muskelquellung besteht, und daß der Cholesteringehalt im Blut und den Geweben erhöht erscheint. Die Ansammlung von Wasser im Muskel erhöht die Permeabilität der Membran und das Cholesterin paralisiert die ACH-Esterase (Ziniz (13)] Der eine und der andere Prozeß trägt zur Verminderung der Potentialspannung des ACH bei. Heim (14) zeigte, daß eine Entquellung eine Verminderung der Permeabilität bedeutet. Interessant ist hierbei zu bemerken, daß Minz (15) darauf hinwies, daß ein Teil der Symptome bei Beri-Beri-Tauben durch ACH allein schon beseitigt werden kann.

Wir haben den Versuch von Méhes sozusagen umgekehrt ausgeführt. Wir fragten uns, wie eine Digitalistitration aussehen würde, wenn der ACH-Gehalt im Organismus a priori erhöht ist bzw. dessen Potential-

* Es ist interessant zu bemerken, daß nach einer Abhandlung Awes [Naturwiss. **28**, 91 (1940)] erwiesen wurde, daß das Molekül des B_1-Vitamins im Molekül des Insulins eingebaut ist. Vielleicht liegt hierin die große Ähnlichkeit in der Wirkung des B_1-Vitamins und des Insulins, die gerade am Herzen zum Ausdruck kommt.

spannung. Diese erhöhte Potentialspannung für das ACH entsteht beispielsweise beim anaphylaktischen Schock. Heim (16), der Mitarbeiter Gremels, zeigte uns erst vor kurzem in einer seiner Abhandlungen das Verhältnis zwischen Allergie und dem vegetativem System und erwies eindeutig, daß das allergische Syndrom mit dem Vagotonus identisch ist. Went und Lisak (17) zeigten schon, daß es am isolierten Meerschweinchenherz im anaphylaktischen Schock zur Vaguserregung kommt. Renz (18) zeigte gleichfalls vor kurzem, daß es im anaphylaktischen Schock auch zu einer Verminderung der ACH-Esterase im Blut des Meerschweinchens kommt, was gleichfalls zur Verminderung der Potentialspannung beiträgt. Alles dies spricht dafür, daß sich diese Vaguserregung tatsächlich im Herzen selbst abspielt.

Den Mechanismus der Entstehung des Vagotonus infolge des anaphylaktischen Schockes erklären wir so, daß im Moment der allergischen Reaktion, also beim Zusammentreffen von Allergen und Antigen, eine elektrische Entladung der Kolloide der Zellmembran erfolgt. Dies würde in vitro der Präzipitation entsprechen. Hiernach wird im anaphylaktischen Schock der Vagotonus erhöht bzw. es wächst die Potentialspannung des ACH, und das ist, was wir mit unserem Versuch erreichen wollen.

Methodik.

Für die Titration des Digitalis verwendeten wir Katzen des vorgeschriebenen Gewichtes von 1700—2800 g. 2—3 Wochen vor der Titration verabreichten wir 4 ccm Meerschweinchenserum intramuskulär. Am Tage der Titration wurden sie mittels Chloralose (0,07 g pro kg per os) narkotisiert. Chloralose verwendeten wir als Narkoticum, weil das Mittel nach Gremels (19) am wenigsten das vegetative System schädigt. Die Atmung wurde künstlich mittels Starling-Pumpe unternommen. Den Vagus durchtrennten wir bei einem Teil des Versuchsmaterials, dagegen beim anderen Teil nicht, um bei der Titration auch den Effekt der Pressorezeptoren feststellen zu können, die bei der Katze im Vagus liegen und so bei den vagotomierten Tieren ausgeschlossen wurden. Als Glykosid wählten wir Digitoxin (Schering) und injizierten es mittels der Müllerschen Dauerinfusionsspritze (20) in die Vena femoralis. Mit der Infusion des Digitoxins begannen wir erst 2—3 Stunden nach der intravenösen Verabreichung von 3 ccm Meerschweinchenserum, auf welche Weise wir den anaphylaktischen Schock hervorriefen. Dieser Schock entsteht erst nach 2—3 Stunden, da der Prozeß der Entladung der Kolloide langsam vonstatten geht. Und wirklich, als wir mit der Titration des Digitoxins begannen, brauchten wir in der Regel eine geringere Dosis, als unter normalen Umständen (0,41 mg pro kg). Wir überzeugten uns an Hand einiger Blindproben, daß das Digitoxin tatsächlich der vorgeschriebenen Dosis entspricht. Die Katze wurde also im anaphylaktischen Schock diesem Glykosid gegenüber empfindlicher. Gewissermaßen besteht ein Verhältnis zwischen der Zeit,

Tabelle.

Nr.	Gewicht in g	Theoretische Dosis in mg	Gefundene Dosis in mg	Unterschied in %	Anmerkung
1	2100	0,86	0,63	26,7	
2	1900	0,78	0,60	23,0	vagi ex, Titriert nach 3 Std.
3	2250	0,92	0,70	23,9	vagi ex, Titriert nach 3 Std.
4	2700	1,10	0,82	35,4	Titriert nach 3 Std.
5	2400	0,98	0,70	28,5	Titriert nach 3 Std.
6	2150	0,88	0,76	13,6	
7	2400	0,98	0,84	14,3	vagi ex, Titriert nach 2 Std.
8	2300	0,94	0,81	13,8	Titriert nach 2 Std.
9	1800	0,74	0,66	10,8	vagi ex, Titriert nach 2 Std.
10	2200	0,90	0,73	18,1	Titriert nach 2 Std.
11	2100	0,86	0,72	16,3	Titriert nach 2 Std.

die seit der intravenösen Injektion des Serums und dem Beginn der Infusion verging, und der Erhöhung der letalen Dosis (siehe die Tabelle).

Nach 3 Stunden brauchten wir etwa 25 % weniger der vorgeschriebenen Dosis und nach 2 Stunden etwa 14.5 % weniger. Als wir sofort nach der intravenösen Verabreichung des Serums begannen, bestand überhaupt kein Unterschied und wir brauchten die vorgeschriebene Dosis. Interessant ist zu bemerken, daß kein Unterschied zwischen den vagotomierten und nichtvagotomierten Tieren bestand, wonach es gleichgültig erscheint, ob der pressorezeptorische Apparat ausgeschaltet war oder nicht. Es folgt daher, daß sich der Prozeß der Empfindlichkeitserhöhung peripher, also im Herzmuskel selbst abspielt.

Unsere theoretischen Vorstellungen haben sich daher, wie wir sehen, bewahrheitet. Wir erklären den Effekt der Erhöhung der letalen Dosis des Digitoxins während des anaphylaktischen Schockes, im Zusammenhang mit Gremels Ansichten damit, daß es zu einer Verminderung der Permeabilität der Membrane der Herzmuskelzelle infolge der Digitoxininfusion kommt, da die Permeabilität an und für sich schon durch den anaphylaktischen Schock stark vermindert war, so daß schließlich die Potentialspannung des ACH derart wächst, daß das Tier ehe die vorgeschriebene Digitoxindosis zur Anwendung kommt, eingeht. Das würde bedeuten, daß sich die Faktoren des anaphylaktischen Schockes und des Digitoxins, die eine Verminderung der Permeabilität der Zellmembrane herbeiführen, summieren.

Besprechung der Ergebnisse.

Erinnern wir uns hierbei nochmals an den Versuch Méhes und vergleichen wir denselben mit dem unseren. Im Experiment Méhes brauchen wir mehr Glykoside, da zu wenig ACH vorhanden ist, in unserem brauchen wir weniger Glykoside, da zuviel ACH vorhanden war. In den beiden Fällen sehen wir den Zusammenhang zwischen dem vegetativen, insbesondere dem cholemimetischen System, und den

Herzglykosiden. Hierdurch vervollständigen sich vorzüglich die Anführungen Gremels über den Zusammenhang zwischen dem vegetativen System und dem Kohlenhydratstoffwechsel, da das ACH, wie wir bereits erwähnten, eine entscheidende Rolle bei der Assimilation des Zuckers in Glykogen im Herzen spielt.

Auf Grund der Versuche Méhes und der unseren könnte man die Hypothese der toxikologischen Dynamik der herzaktiven Glykoside aufstellen. Dieselbe besteht wahrscheinlich darin, daß die Permeabilität der Membrane der Herzmuskelzelle soweit herabgesetzt wird, bis schließlich der Vagotonus in solchem Maße anwächst, daß das Tier eingeht. Anders verhält es sich jedoch, wenn man die Permeabilität durch Digitalis so stark erhöht, daß die Vagusfunktion vollkommen erlischt. Bei einer langsamen Infusion können wir annehmen, daß die Potentialspannung des ACH eher anwächst, als die Permeabilität sich soweit erhöht, daß die Vagusfunktion erlischt.

Zusammenfassung.

1. Bei Beri-Beri-Tauben wird die Empfindlichkeit gegenüber Digitalis infolge eines ACH-Mangels bzw. der Potentialspannung des ACH vermindert. Hierzu kommt es einerseits infolge zu geringer Bildung von ACH, ferner auch wegen Erhöhung der Permeabilität der Herzmuskelzellenmembran infolge Muskelschwellung und Paralyse der ACH-Esterase wegen der Erhöhung des Cholesteringehaltes im Blut und in den Geweben.

2. Im anaphylaktischen Schock vergrößert sich die Digitalisempfindlichkeit infolge Erhöhung der Potentialspannung des ACH. Dies erfolgt, da sich die Faktoren des anaphylaktischen Schockes und des Digitoxins, die eine Verminderung der Permeabilität der Zellmembran herbeiführen, summieren, wodurch das Tier infolge des stark erhöhten Vagotonus eingeht, bevor noch die vorgeschriebene Glykosiddosis infundiert wurde.

Literatur.

1) Traube: Zit. nach Weese, „Digitalis". Georg Thieme Verlag 1936, S. 197. — 2) Gremels: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **169**, 689 (1933); **194**, 629 (1940). 3) Kochmann: Arch. internat. Pharmacodynam. **19**, 327 (1909). — 4) Gremels: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **179**, 360 (1935). — 5) Kull: Ebenda **194**, 447 (1939). 6) Gremels: Erg. Physiol. usw. **42**, 53 (1939). — 7) Rein: Ber. dtsch. chem. Ges. Jg. **74**, 171 (1941), Abt. A. — 8) Méhes: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **176**, 141 (1934). — 9) Hanslik: J. Pharmacol. (Am.) **35**, 636 (1929). — 10) Wenckebach: Lancet **1928**, II, S. 625. — 11) Brücke u. Sarkander: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 213 (1940). — 12) Brücke: Wien. klin. Wschr. **1941**, 893, Nr. 44. — 13) Zinitz: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194**, 440 (1940). — 14) Hein: Ebenda **191**, 212 (1938); **192**, 1 (1939). — 15) Minz: Zit. nach Stepp: Münch. med. Wschr. **1941**, S. 181, Nr. 7. — 16) Hein: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 51 (1940). — 17) Went u. Lisak: Ebenda **179**, 616 (1935). — 18) Renz: Ebenda **198**, 385 (1941). — 19) Gremels: Ebenda **179**, 360 (1935). — 20) Müller: Ebenda **194**, 426 (1940).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität München.

Über Zeit/Menge-Beziehungen bei der Digitalisauswertung am Meerschweinchen.

II. Mitteilung: Versuche mit Reinsubstanzen.

Von

Walther Straub mit **E. Triendl** und **J. Bode.**

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 5. Februar 1942.)

In einer früheren Untersuchung[1] wurden die quantitativen Zeit/Menge-Beziehungen bei der Wirkung von zwei Digitalisstoffen ermittelt, die zwei Vertreter der beiden Digitalisklassen darstellen, nämlich ein Purpureastoff Verodigen (Gitalin) und ein Digitaloid (k-Strophanthin). Die als Resultat der Untersuchung sich ergebende Darstellung (l. c. Abb. 1, S. 191) stellt gewissermaßen die Kurve der Geschwindigkeit der Bindung der Digitalisstoffe an das Herz dar, bezogen auf die Konzentration der einfließenden Digitalisstofflösung.

Bei dieser Untersuchung ergab sich, daß das Digitaloid k-Strophanthin wesentlich rascher wirkt wie ceteris paribus der Purpureastoff. Aus einer Lösung von 1 : 10000 wird beispielsweise die tödliche Menge in 26 Minuten pro kg gebunden, während das Herz aus einer gleichstarken Konzentration des Purpureastoffs sich seine tödliche Dosis erst in 85 Minuten pro kg herausholt.

Ermittelt man die aus den jeweiligen Konzentrationen aufgenommenen absoluten Stoffmengen, so ergeben sich interessante Beziehungen. Erst von einer bestimmten Konzentration ab werden die aus ihr entnommenen Stoffmengen kleinst und konstant, stellen also eben den Titer dar. Mit steigenden Konzentrationen verschlechtert sich aber der Titer einer und derselben Substanz, so daß z. B. die Giftentnahme (Titer) aus einer Gitalinlösung von 1 : 500 5,6 mg/kg beträgt, gegen 1,8 mg/kg bei einer Konzentration von 1 : 8000. In dieser Beziehung bestehen individuelle Verschiedenheiten der einzelnen Substanzen. Das Sinken des Titers mit steigenden Konzentrationen ist beim Purpureaglykosid besonders bedeutsam, während beim k-Strophanthin erst zwischen den Konzentrationen von 1 : 10000 und 1 : 5000 eine merkliche Titerverschlechterung auftritt.

Die so gefundenen Eigenschaften lassen für die verschiedenen Glykoside Typen aufstellen, die vielleicht als Klassifizierungsmerkmal höhere Bedeutung haben könnten, als die Zahlenwerte der Titer der einzelnen Substanzen.

[1] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **198**, 189 (1941).

Die bisher verwendeten Stoffe Gitalin und k-Strophanthin sind zwar sehr reine Substanzen von großer Wirksamkeit, aber sie sind doch noch nicht einheitlich, eben keine Reinsubstanzen im chemischen Sinne. Deshalb wurde nunmehr die Untersuchung auf wirkliche Reinsubstanzen ausgedehnt, auf kristallinische Substanzen, die in absolut trockenem Zustand verwendet bzw. auf solchen umgerechnet wurden.

Methodisch wurde bei dieser Untersuchung genau so vorgegangen wie bei der vorigen [1], d. h. die zu prüfenden Lösungen wurden dem Meerschweinchen intravenös in verschiedenen Konzentrationen mit einer konstanten Geschwindigkeit von durchschnittlich 13,14 ccm/Stunde infundiert und der Zeitpunkt bzw. die eingeflossene Menge des Giftes im Moment des Herztodes festgestellt. Die Feststellung dieses Zeitpunktes geschah wieder mit Hilfe des Edelmannschen Elektromagnetsaitengalvanometers, das subjektiv beobachtet wurde. Eine Registrierung von dessen Ausschlägen fand nicht statt. Die Beobachtung bei laufender Vergiftung zeigte, daß zunächst die Ausschläge größer werden, wie das auch R. Walther [2] für Gitoxigenin unter Registrierung der Elektrocardiogramme festgestellt hat. Zum Schluß werden die Ausschläge sehr groß und ganz unregelmäßig. In unseren Versuchen diente das Saitengalvanometer lediglich als Indikator. Die tödliche Endreaktion ist übrigens bei den einzelnen Glykosiden recht verschieden. Sehr scharf ist sie bei k-Strophanthosid Stoll, bei g-Strophanthin, bei Convallatoxin, während Digitoxin und k-Strophanthol-γ unscharfe Endreaktionen geben. Unscharf ist die Endreaktion bei allen Glykosiden in den stärksten Verdünnungen. Die scharfe Endreaktion macht ganz den Eindruck, wie die Endreaktion unter Blutdruckregistrierung [3]. Der unkritische Stillstand pflegt sich über längere Zeit hinzuziehen. Man hat den Eindruck, als ob es dem Herzen schwerfällt, aus den Giftlösungen die letzten tödlichen Anteile sich herauszuholen. In allen Fällen aber kann man sagen, daß im Moment der Saitenruhe der definitive Herztod eingetreten ist.

Digitoxin.

Zur Verwendung kam reinstes kristallisiertes Digitoxin Merck. Digitoxin enthält nach A. Stoll [4] $3\,H_2O = 6{,}6\,\%$ Wasser. Von Digitoxin und von allen anderen Reinsubstanzen wurde von der Lösung, die zur Meerschweinchenauswertung hergestellt wurde, gleichzeitig der Froschtiter ermittelt. Er war für Digitoxin 2,09 mg/kg. Bei der Herstellung von Digitoxinlösungen in Wasser oder Kochsalz muß peinlich darauf geachtet werden, daß die Lösung während der Infusion nicht auskristallisiert, wozu beim Digitoxin bekanntlich immer sehr starke Neigung vorhanden ist. Durch Lösen über geeignete Mengen von Methanol kann man das Auskristallisieren verhindern. Unsere höchste Methanolmenge betrug 4 % bei einer Digitoxinkonzentration von 1 : 5000, 2 % bei einer Konzentration von 1 : 10000 und 1 : 20000, und 0,8 % bei 1 : 40000. Die Lösungen blieben bestimmt während der an sich kurzfristigen Versuche konstant. Da bei der 4 %igen Methanollösung aber nur wenige ccm zur Infusion nötig waren, war die absolute Menge Methylalkohol so gering, daß seine eventuelle Eigenwirkung vernachlässigt werden konnte.

[2] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 201 (1940). — [3] Ebenda **194**, 1 (1939). [4] Pharmaceutica Acta Helvetiae **9**, 145 (1934).

Bei der Infusion am Meerschweinchen zeigte das Digitoxin erst bei einer Konzentration von 1 : 40000 eine Annäherung an einen Minimaltiter.

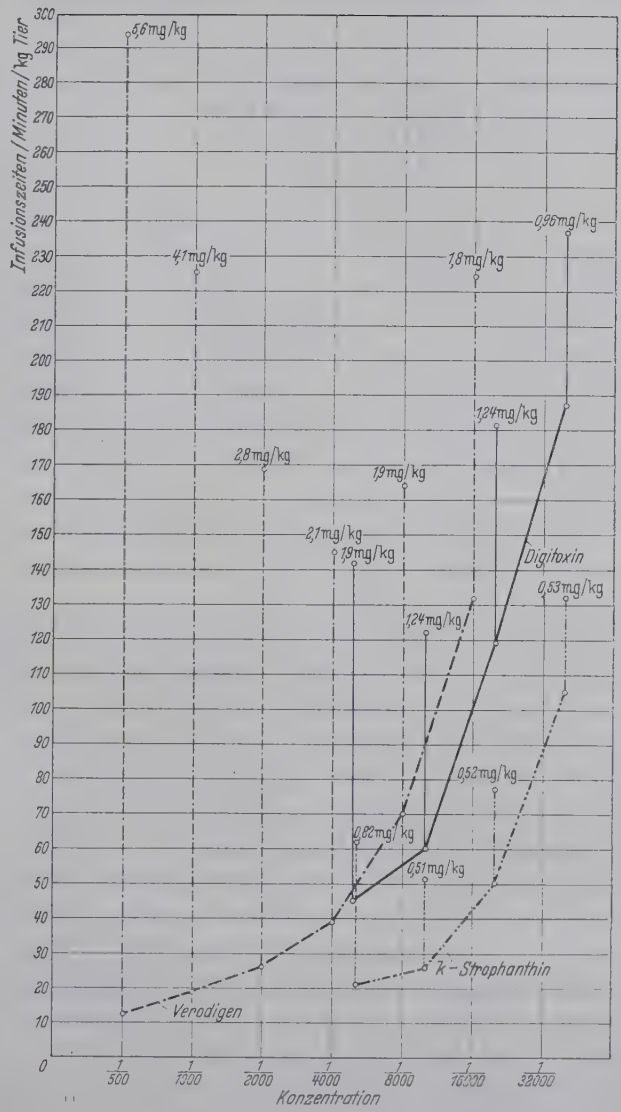


Abb. 1. Die vertikalen Striche bedeuten den Giftverbrauch (mg/kg Meerschweinchen), 2 mg = 50 mm.
— · — · — = Verodigen (Gitalin,
— · · — · · — = k-Strophanthin Boehringer (wasserfrei berechnet),
– ——— = Digitoxin Merck (wasserfrei berechnet).

Es hat ebenfalls die Eigenschaft, in den höheren Konzentrationen den Titer zu verschlechtern. Die Bindungsgeschwindigkeiten sind also gering. Die Lösung von 1 : 40000 verlangt schon eine Infusionsdauer von 187 Minuten pro kg Tier. Die zum Vergleich aufgenommene Kurve von k-Strophanthin (uneinheitliche Substanz) liegt weit unterhalb und nach rechts verschoben von der Digitoxinkurve. Die Bindung des k-Strophanthins erfolgt also viel rascher, die Wirksamkeit (der Titer) ist eine viel größere als die des Digitoxins (Abb. 1). Damit sind zwei Typen ermittelt, der Typus Purpureaglykosid und der Typus Digitaloid. Das reine Purpureaglykosid, in dem Bereich, in dem es gemessen werden konnte, entspricht ganz dem Typus, den in der früheren Untersuchung [1] das Gitalin aufwies. Die beiden Kurven verlaufen annähernd parallel und stehen nicht weit auseinander. Man wird sagen können, die Purpureaglykoside sind Langsamwirker mit vergleichsweise hohem Giftverbrauch oder niedrigem Titer.

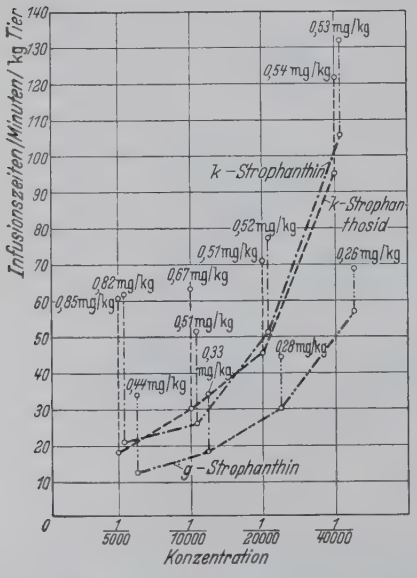


Abb. 2. Die vertikalen Striche bedeuten den Giftverbrauch (mg/kg Meerschweinchen), 2 mg = 50 mm.
– – – – = k-Strophanthosid Stoll (wasserfrei),
— · — · — = k-Strophanthin Boehringer (wasserfrei berechnet),
— · · — · · — = g Strophanthin (wasserfrei berechnet).

Strophanthine.

I. k-Strophanthosid Stoll.

Das k-Strophanthin des Handels ist bekanntlich keine chemische Reinsubstanz. Es wurde deshalb als Vertreter der Strophanthin-Reinsubstanzen das k-Strophanthosid (Stoll)* verwendet, von dem ja Stoll angibt, daß es der Hauptträger der Wirkung des Kombé-Samens ist [5].

Das Resultat unserer Untersuchung ist in Abb. 2 gegeben, die zeigt, daß das k-Strophanthosid etwa bei 1 : 20000 seinen konstanten Titer hat. Bei 1 : 10000 beginnt schon die Titerverschlechterung. Die Werte der Bindungszeit sind klein und schnell erreicht.

* Herr Prof. A. Stoll hatte die Freundlichkeit, uns die nötigen Mengen der k-Strophanthosidsubstanz, über Phosphorpentoxyd getrocknet, in Ampullen à 100 mg abgepackt zur Verfügung zu stellen. Es sei ihm an dieser Stelle für seine Freundlichkeit bestens gedankt.

[5] Helvet. chim. Acta **20**, 1484 (1937).

Wir haben gleichzeitig die für k-Strophanthin Boehringer ermittelten Werte in einer Vergleichskurve eingetragen. Man sieht, daß die Unterschiede dieser beiden Substanzen nach unseren Messungsgesichtspunkten nur gering sind. Die beiden Kurven verlaufen so ziemlich parallel miteinander und die Titerwerte des k-Strophanthins sind nur wenig schlechter wie die des k-Strophanthosids, woraus man wohl den Schluß ziehen darf, daß das k-Strophanthin nur wenig mit unwirksamen Beistoffen verunreinigt ist, vielmehr werden seine Beistoffe nahezu ebenso wirksam sein, wie der Hauptstoff.

II. g-Strophanthin.

Nach den Angaben des Laboratoriums C. F. Boehringer Söhne, Mannheim-Waldhof, die uns freundlicherweise das g-Strophanthin zur Verfügung gestellt haben, enthält das Präparat 20.1 % Wasser. Dieser Wassergehalt wurde bei der Berechnung des Titers berücksichtigt.

Die Prüfung des g-Strophanthins ergab, daß es sich deutlich vom k-Strophanthin unterscheidet (siehe Abb. 2). Es wahrt noch den Digitaloidcharakter, ist aber an Wirksamkeit das Endglied unter den von uns untersuchten Digitaloiden. Die Kurve liegt merklich nach rechts vom k-Strophanthosid verschoben. Nach diesem Kurvenverlauf und den Titerwerten ist das g-Strophanthin das stärkste unter allen Digitaloiden. Es wirkt am raschesten und mit kleinen Dosen (höchstem Titer).

III. Convallatoxin*.

Während man die ungefähre Gruppenstellung von Purpureaglykosiden und Digitaloiden schon aus der sehr umfänglichen praktischen Verwendung dieser Substanzen entnehmen kann, ist das Convallatoxin noch nicht in die Praxis übergegangen, so daß man noch nicht weiß, in welche der zwei Gruppen es einzureihen ist. Hier setzt nun unsere Untersuchung ein. Die Abb. 3 zeigt, daß das Convallatoxin Digitaloidcharakter hat. Die Zeit-Menge-Kurve verläuft dem k-Strophanthosid nahezu parallel. Auch die Titer sind nur wenig voneinander verschieden, so daß, falls etwa die Praxis das Convallatoxin therapeutisch verwenden wollte, sie sich im großen ganzen an die mit Digitaloiden aufgestellten Behandlungsrichtlinien anzulehnen hätte.

IV. k-Strophanthol-γ.

Das Strophanthidin trägt bekanntlich am Kohlenstoffatom 10 eine Aldehydgruppe. Durch katalytische Reduktion haben E. Rabald und J. Kraus [6] diese Aldehydgruppe zu einem Alkohol reduziert. Die Re-

* Anmerkung: Zur Verwendung kam eine schön kristallisierte Substanz mit einem Kristallwassergehalt von 12,5 %, die uns von der Firma Goedecke & Co., Berlin-Charlottenburg, zur Verfügung gestellt wurde.

[6] Hoppe-Seylers Z. **265**, 39 (1940).

duktion geht auch am ganzen Strophanthinmolekül. Das auf diese Weise entstehende k-Strophanthol-γ stand uns von C. F. Boehringer Söhne, Mannheim-Waldhof, zur Verfügung. Nach den Angaben der Firma enthält es 3% Wasser, die bei der Berechnung berücksichtigt wurden. Die Auswertung ergab, daß das k-Strophanthol-γ an Wirksamkeit und Geschwindigkeit der Wirkung dem Ausgangsmaterial überlegen ist. Es steht an Wirksamkeit dem g-Strophanthin[7] nahe (Abb. 4).

Es zeigt sich also, daß eine konstitutionelle Änderung durch Reduktion ein wirksameres Produkt schafft, wie das Ausgangsmaterial, während sonst bekannt ist, daß Eingriffe in das Molekül des Strophanthins meistens mit Wirkungsverlust beantwortet werden, wie es z. B. bei der Aufspaltung der Lactongruppe der Fall ist.

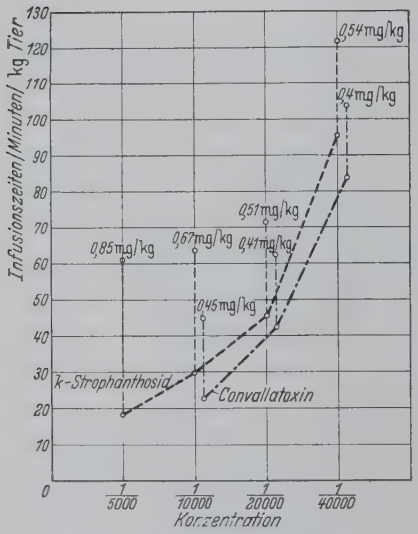


Abb. 3. Die vertikalen Striche bedeuten den Giftverbrauch (mg/kg Meerschweinchen), 2 mg = 50 mm.
— · — · — · — = Convallatoxin Goedecke (wasserfrei berechnet),
— — — — — — = k-Strophanthosid Stoll (wasserfrei).

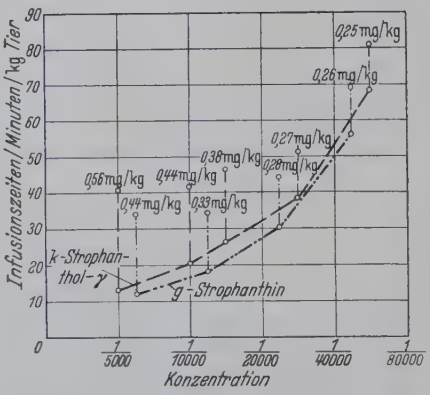


Abb. 4. Die vertikalen Striche bedeuten den Giftverbrauch (mg/kg Meerschweinchen), 2 mg = 50 mm.
— — — — = k-Strophanthol-γ (wasserfrei berechnet),
— · · — · · — = g-Strophanthin (wasserfrei berechnet).

Meerschweinchentiter/Froschtiter.

In der nachfolgenden Tabelle wird eine Zusammenstellung der Meerschweinchentiter und Froschtiter* der verschiedenen Substanzen gegeben.

[7] Daß das g-Strophanthin eine Alkoholgruppe haben soll, ist früher schon vermutet worden [s. Elderfield: Chem. Reviews **17**, 187 (1935), zitiert nach E. Rabald u. J. Kraus[6]].

* Anmerkung: Die Froschtiter wurden sehr genau nach der zeitlosen Methode ermittelt, d. h. es wurden möglichst gewichtsgleiche Frösche verwendet und die Untersuchung in einem Thermostatenraum bei einer konstanten Temperatur von 18—20° durchgeführt. Die Injektion erfolgte mit einer Präzisions-Mikrospritze[8], die Berechnung der Mittelwerte nach Kärber[9].

[8] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **185**, 456 (1937). — [9] Ebenda **162**, 480 (1931).

Bis auf den Fall Digitoxin und k-Strophanthol-γ waren die Meerschweincheneinheit und der Froschtiter von derselben Größenordnung. Die kleinen Abweichungen waren nicht bei allen Glykosiden gleichsinnig. Einmal war der Meerschweinchentiter der größere, einmal der Froschtiter. Die beiden Methoden, den Titer zu gewinnen, unterscheiden sich dadurch, daß bei der Froschmethode das Glykosid eine Resorptionsbarriere zu überschreiten hat, die bei der Meerschweinchenmethode nicht vorhanden ist. Wenn aber auch bei der Froschmethode hemmende Faktoren vorhanden sind, so machen sie sich im allgemeinen nicht sehr geltend.

Zusammenstellung der Meerschweinchentiter und Froschtiter.

Nr.		Tödliche Dosis g/g Meerschweinchen	Tödliche Dosis g/g Frosch
1	Digitoxin Merck (wasserfrei berechnet)	< 0,000 000 96	0,000 002 09
2	k-Strophanthin Boehringer (wasserfrei berechnet)	0,000 000 52	0,000 000 52
3	Verodigen (Gitalin) Boehringer	0,000 001 85	0,000 004 20
4	k-Strophanthosid Stoll (wasserfrei)	0,000 000 51	0,000 000 50
5	g-Strophanthin (wasserfrei berechnet)	0,000 000 26	0,000 000 33
6	Convallatoxin (wasserfrei berechnet)	0,000 000 40	0,000 000 38
7	k-Strophanthol-γ Boehringer (wasserfrei berechnet)	0,000 000 25	0,000 000 85

Anhang.

Die für die einzelnen Punkte der mitgeteilten Kurven zugrunde gelegten Werte sind in den folgenden Tabellen gegeben:

I.

Generaltabelle der Mittelwerte sämtlicher Digitoxinversuche.
Froschtiter = 0,000 002 24 g/g Frosch = 0,000 002 09 g/g Frosch (wasserfrei berechnet).

Nr.	Konzentration	Gewicht des Tieres in g	Verbrauchte ccm bis zum Herztod	Enthaltend g Digitoxin	Tödliche Dosis g Digitoxin pro g Meerschweinchen	Umgerechnet auf wasserfreies Präparat	Infusionszeit in Minuten	Umrechnungsfaktor Meerschweinchentiter/Froschtiter
1	1 : 5000	328	3,27	0,000 654	0,000 002 06	0,000 001 92	14′ 54″	0,92
2	1 : 10000	319	4,28	0,000 428	0,000 001 33	0,000 001 24	19′ 13″	0,594
3	1 : 20000	320	8,491	0,000 425	0,000 001 33	0,000 001 24	38′ 05″	0,594
4	1 : 40000	303	12,65	0,000 316	0,000 001 03	0,000 000 96	56′ 36″	0,460

II.

Generaltabelle der Mittelwerte sämtlicher k-Strophanthosid-Versuche (wasserfrei).
Froschtiter = 0,000 000 5 g/g Frosch.

Nr.	Konzentration	Gewicht des Tieres in g	Verbrauchte ccm bis zum Herztod	Enthaltend g k-Strophanthosid	Tödliche Dosis g k-Strophanthosid pro g Meerschweinchen	Infusionszeit in Minuten	Umrechnungsfaktor Meerschweinchentiter/Froschtiter
1	1 : 5000	305	1,30	0,000 260	0,000 000 85	5′ 41″	1,70
2	1 : 10000	319	2,13	0,000 213	0,000 000 67	9′ 35″	1,34
3	1 : 20000	315	3,22	0,000 161	0,000 000 51	14′ 39″	1,02
4	1 : 40000	322	6,95	0,000 174	0,000 000 54	30′ 42″	1,08

III.

Generaltabelle der Mittelwerte sämtlicher g-Strophanthinversuche. Froschtiter = 0,000000417 g/g Frosch = 0,00000333 g/g Frosch (wasserfrei berechnet).

Nr.	Konzentration	Gewicht des Tieres in g	Verbrauchte ccm bis zum Herztod	Enthaltend g g-Strophanthin	Tödliche Dosis g g-Strophanthin pro g Meerschweinchen	Umgerechnet auf wasserfreies Präparat	Infusionszeit in Minuten	Umrechnungsfaktor Meerschweinchentiter/Froschtiter
1	1: 5000	358	0,98	0,000196	0,000000549	0,000000439	4′ 22″	1,317
2	1:10000	337	1,37	0,000137	0,000000407	0,000000325	6′ 08″	0,976
3	1:20000	345	2,40	0,000120	0,000000348	0,000000278	10′ 37″	0,835
4	1:40000	325	4,172	0,000104	0,000000323	0,000000258	18′ 23″	0,775

IV.

Generaltabelle der Mittelwerte sämtlicher Convallatoxinversuche Froschtiter = 0,000000258 g/g Frosch = 0,00000033 g/g Frosch (wasserfrei berechnet).

Nr	Konzentration	Gewicht des Tieres in g	Verbrauchte ccm bis zum Herztod	Enthaltend g Convallatoxin	Tödliche Dosis g Convallatoxin pro g Meerschweinchen	Umgerechnet auf wasserfreies Präparat	Infusionszeit in Minuten	Umrechnungsfaktor Meerschweinchentiter/Froschtiter
1	1:10000	333	1,717	0,000172	0,000000515	0,000000451	7′ 05″	1,355
2	1:20000	379	3,579	0,000179	0,000000473	0,000000414	15′ 48″	1,245
3	1:40000	372	6,825	0,000171	0,000000459	0,000000402	31′ 10″	1,208

V.

Generaltabelle der Mittelwerte sämtlicher k-Strophanthol-γ-Versuche. Froschtiter = 0,000000088 g/g Frosch = 0,000000085 g/g Frosch (wasserfrei berechnet).

Nr.	Konzentration	Gewicht des Tieres in g	Verbrauchte ccm bis zum Herztod	Enthaltend g k-Strophanthol-γ	Tödliche Dosis g k-Strophanthol-γ pro g Meerschweinchen	Umgerechnet auf wasserfreies Präparat	Infusionszeit in Minuten	Umrechnungsfaktor Meerschweinchentiter Froschtiter
1	1: 5000	330	0,97	0,000194	0,000000577	0,00000056	4′ 20″	0,656
2	1:10000	322	1,46	0,000146	0,000000453	0,000000439	6′ 33″	0,515
3	1:15000	293	1,73	0,000115	0,000000395	0,000000383	7′ 47″	0,449
4	1:30000	331	2,80	0,000093	0,000000280	0,00000027	12′ 38″	0,318
5	1:60000	330	5,06	0,000084	0,000000256	0,000000248	22′ 35″	0,291

Zusammenfassung.

1. Die in einer früheren Arbeit [1] ermittelten Zeit/Menge-Beziehungen bei der Digitalisauswertung am Meerschweinchen wurden auf mehrere chemisch reine Glykoside übertragen.

2. Untersucht wurden:

Digitoxin Merck, k-Strophanthosid Stoll, g-Strophanthin, als im Verkehr befindliche Digitalisglykoside; Convallatoxin Goedecke, k-Strophanthol-γ Boehringer, als wissenschaftliche Präparate.

3. Die ganze Gruppe der Digitaloide verhält sich nach Zeit/Menge-Betrachtung grundsätzlich verschieden im Vergleich mit dem Purpureaglykosid Digitoxin.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Oslo.
(Direktor: Prof. Dr. med. Klaus Hansen.)

Der Antagonismus Chloralose-Cardiazol.

Von

Ottar Dybing und Fred Dybing.

(Eingegangen am 18. Februar 1942.)

In einer früheren Arbeit[1] wurde der Antagonismus Chloralose-Cardiazol bei Mäusen bezüglich der Weckwirkung des Cardiazols in der Chloralosenarkose sowie in Hinblick auf die Erhöhung der letalen Dosierung von Cardiazol bei chloralosierten Tieren untersucht. Die Versuche zeigten einen deutlichen und gegenseitigen Antagonismus. Die mittlere Weckdosis des Cardiazols betrug 43 mg/kg subcutan bei der Seitenlagedosis der Chloralose (0.067 g/kg intraperitoneal); bei der doppelten Seitenlagedosis trat eine Weckwirkung von 280 mg/kg Cardiazol an ein. Die mittlere tödliche Dosis des Cardiazols belief sich bei der Seitenlagedosis der Chloralose auf 310 mg/kg, und bei der doppelten Seitenlagedosis auf 413 mg/kg, d. h. eine Erhöhung der normalen letalen Cardiazoldosis (80 mg/kg subcutan) um das $3^1/_2$- bzw. das 5fache. Außerdem ließ sich zeigen, daß kleine Cardiazoldosen (6—8 mg/kg intravenös) eine erhebliche Stimulierung der Atmung bei Kaninchen, deren Atemvolumen durch Chloralose auf ungefähr 50% der Anfangswerte herabgesetzt war, bewirkten. Nun hat Hess[2] in einer Arbeit, die sich in erster Linie mit der Wirkung verschiedener Analeptica (Cardiazol, Coramin, Pervitin und Cycliton) auf die Alkoholnarkose befaßt, auch die Wirkung dieser Analeptica auf die Chloralosenarkose untersucht. Hess kommt zu dem Ergebnis, daß keines dieser Weckmittel, auch nicht Cardiazol, antagonistisch auf die Chloralosenarkose wirkt. Da diese Versuche mit unseren Ergebnissen an Mäusen nicht übereinstimmen, haben wir entsprechende Versuche an Ratten angestellt. Hess hat eine Dosierung von 8 mg Chloralose pro 100 g Körpergewicht intraperitoneal verwendet, was in seinen Versuchen einer durchschnittlichen Narkosedauer von 182.5 Minuten entspricht. Das Cardiazol wurde subcutan in Dosen von 1—10 mg nach Eintreten der Seitenlage injiziert, und es war ohne Einfluß auf die Narkose bezüglich einer Verkürzung der Narkosedauer. Über das Gewicht der verwendeten Ratten liegen keine Angaben vor.

Wir haben in unseren Versuchen männliche Ratten von ungefähr 200—250 g Gewicht verwendet. Die Chloralose wurde, sofern keine anderen Angaben gemacht sind, intraperitoneal in 0.5%iger Lösung (isotonische Kochsalzlösung) injiziert. Das Cardiazol wurde in Form einer 1%igen

[1] Dybing, O.: Zur Kenntnis der Chloralosenarkose. Oslo 1941. — [2] Hess, J.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, 204 (1941).

Lösung von kristallinischem Pentamethylentetrazol in isotonischer Kochsalzlösung injiziert. Bei einer Dosis von 0,08 g/kg Chloralose betrug die Dauer der Seitenlage ungefähr 100 Minuten, welcher Befund mit den Ergebnissen von Hess übereinstimmt (Stadium IV und V = 107 Minuten). Da wir zuerst von der Annahme ausgingen, daß die Cardiazoldosierung von Hess sich auf 100 g Körpergewicht bezog, welche Dosierungsangabe sonst in seiner Arbeit verwendet ist, begannen wir damit, den chloralosierten Ratten 10 mg Cardiazol pro 100 g subcutan zu verabreichen und fanden in allen Fällen eine ausgesprochene Weckwirkung. Vor der Cardiazolinjektion lagen die Tiere in vollständiger Seitenlage und konnten in die Rückenlage gebracht werden (Stadium V). Die Cardiazolwirkung trat innerhalb weniger Minuten ein, die Tiere erhoben sich aus der Seitenlage und standen mit einiger Unsicherheit auf allen vieren (Stadium I). Die Unterbrechung der Narkose war dauernd. Das nämliche war der Fall bei 8, 6,5 und 5 mg 100 g; erst bei 4 mg/100 g trat keine Weckwirkung mehr bei allen Versuchstieren jeder Gruppe ein, weshalb dieses Gebiet näher untersucht wurde, um die mittlere Weckdosis des Cardiazols bei 0,08 g/kg Chloralose festzustellen (Tabelle 1).

Tabelle 1. Die mittlere Weckdosis von Cardiazol bei chloralosierten Ratten (0,08 g/kg intraperitoneal).

Cardiazol mg/100 g	Weckwirkung
5	8 von 8
4	7 „ 8
3	3 „ 8
2	0 „ 8

Mittel = 3,9 mg/100 g Cardiazol subcutan.

Die Weckdosis für chloralosierte Ratten (0,08 g/kg) liegt also bei ungefähr 4 mg/100 g, d. h. sie ist praktisch die nämliche wie bei leicht chloralosierten Mäusen. Bei intravenöser Injektion sahen wir eine deutliche Weckwirkung bei 2—3 mg/100 g Cardiazol bei den chloralosierten Ratten. Die Divergenz zwischen unseren Befunden und den Ergebnissen von Hess läßt sich nur so erklären, daß Hess ein zu niedriges Cardiazoldosierungsgebiet untersucht hat. Hingegen können wir die fehlende Weckwirkung von Coramin bei chloralosierten Ratten bestätigen. Selbst nach großen Dosen (50 mg/100 g intravenös) kam es zu keiner Weckwirkung, und die Tiere starben auch nach wenigen mg Coramin intravenös.

Als Grund für die Dosierung 8 mg/100 g Chloralose gibt Hess an, daß die narkotische Wirkung bei geringeren Dosen zu schwach war, und daß es bei höheren Dosierungen zu starken Krämpfen komme, welche die Wirkung der Weckmittel stören würde. Um die Stärke dieser Chloralosedosierung zu ermitteln, haben wir einige Versuche durchgeführt und die mittlere Seitenlagedosis bei Ratten bestimmt (Stadium IV). Seitenlage trat bei diesen Dosierungen frühestens ungefähr 30 Minuten nach der Injektion ein. Das Ergebnis ist aus Tabelle 2 ersichtlich, wo die mittlere Seitenlagedosis in der üblichen Weise mittels der Formel nach Kärber[3]

[3] Burn, J. H.: Biologische Auswertungsmethoden, S. 29.

auf Grund der Zahlen innerhalb der punktierten Linien errechnet worden ist.

Die Dosierung 0,08 g/kg Chloralose ist somit als eine mäßige Dosis zu bezeichnen. Ratten, welche mit 0,055 g/kg Chloralose in Seitenlage gebracht worden waren, wurden aber besonders leicht mit Cardiazol geweckt; bei intravenöser Injektion lag die Weckdosis bei 1—2 mg/100 g Cardiazol.

Tabelle 2. Die mittlere Seitenlagedosis von Chloralose bei Ratten.

Chloralose g/kg	Anzahl Tiere mit Seitenlage
0,080	4 von 4
0,070	4 „ 4
. . . . .	. . . . .
0,061	4 „ 4
0,057	3 „ 4
0,053	2 „ 4
0,049	2 „ 4
0,046	0 „ 4
. . . . .	. . . . .
0,040	0 „ 4

Mittel = 0,055 g/kg

Chloralose intraperitoneal.

Wir haben auch die letale Wirkung höherer Chloralosedosen an Ratten untersucht und finden hierbei eine enge Übereinstimmung mit den Verhältnissen bei Mäusen, wo die mittlere tödliche Dosis 0,20 g/kg intraperitoneal beträgt. Gruppen von je 4 Ratten erhielten Chloralose in Dosen von 0,13 g/kg an. Bis zu 0,20 g/kg starb keines der Versuchstiere, bei 0,22 und 0,24 g/kg starb über die Hälfte der Tiere in jeder Versuchsgruppe. Wie diese Versuche zeigen, weicht die narkotische Wirkung der Chloralose bei Ratten nicht wesentlich von jener bei den anderen Tieren ab. Die genannte Krampfwirkung bei höheren Dosen haben wir nicht bestätigen können. Im Anfangsstadium der Narkose besteht eine gewisse Neigung zu tonischen Kontraktionen der Nackenmuskeln, aber diese Wirkung ist nur vorübergehend und bei höheren Dosen weniger ausgesprochen als bei niedrigen. Bei den hohen Chloralosedosen kamen die Tiere 10—15 Minuten nach der Injektion in die Seitenlage; die Dauer der Narkose betrug bei den nicht-letalen Dosen 9—10 Stunden und die Narkose war verhältnismäßig tief und ruhig.

Zusammenfassung.

Cardiazol zeigt bei subcutaner und intravenöser Injektion eine deutliche Weckwirkung bei Ratten in leichter Chloralosenarkose. Das Dosierungsgebiet für Chloralose ist bei Ratten von einer ähnlichen Breite wie bei anderen Versuchstieren. Zweck der Versuche war, die fehlende Weckwirkung von Cardiazol bei chloralosierten Ratten, wie Hess sie in seinen Versuchen sah, zu erklären.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Kopenhagen.
(Chef: Prof. Dr. Knud O. Møller.)

Über die Wirkung von einigen Thiobarbitursäurederivaten auf Blutdruck und Respiration bei verschiedenen quantitativ bestimmten Narkosegraden. Bestimmung der Eliminationsgeschwindigkeit und Narkosebreite.

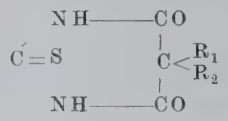
Von

Lise Engbäk, A. Juul und Knud O. Møller.

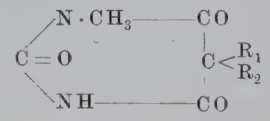
Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 11. März 1942.)

Auf Veranlassung einer kurzen Mitteilung von Miller und Mitarbeitern[1] (1935) veröffentlichten Tabern und Volwiller[2] eine Arbeit über die Herstellung verschiedener Thiobarbitursäuren und über vorläufige Untersuchungen der narkotischen Eigenschaften dieser Verbindungen. Besonders die beiden Verbindungen Äthyl-(1-Methyl-butyl-)thiobarbitursäure und Äthyl-isoamyl-thiobarbitursäure haben in Amerika und England eine Anwendung in größerem Ausmaße gefunden mit gleicher Indikation, wie sie für die N-methylierten Barbitursäuren (Evipan und andere) gilt.



Thiobarbitursäure



N-methylbarbitursäure

Die am häufigsten angewandte Verbindung ist „Pentothal" = Äthyl-(1-methyl-butyl-)thiobarbitursäure (d. h. das Thioderivat des in Amerika häufig angewandten Schlafmittels „Pentobarbital"). Mit „Thio-ethamyl" (Thioderivat des „Amytal") wird in Amerika die Äthyl-isoamyl-thiobarbitursäure bezeichnet. Die genannten Verbindungen werden vorwiegend intravenös injiziert zur Erzeugung von kurzdauernden Narkosen angewandt; die Berechtigung hierfür wurde für Pentothal von Lundy und Mitarbeitern[3] auf Grund von Erfahrungen an etwa 8000 Narkosen erwiesen.

Die ausgedehnte klinische Literatur, sowie die nur spärlich vorliegenden experimentellen Untersuchungen haben im wesentlichen folgendes ergeben:

---

[1] Miller, Munch u. Crossley: Science **81**, 615 (1935). — [2] Tabern, L. D., u. E. H. Volwiller: J. Amer. Chem. Soc. **57**, 1961 (1935). — [3] Lundy u. Mitarbeiter: Proc. Staff Meet. Mayo Clin. Rochester **13**, 177 (1938).

Die Einführung von Schwefel in Barbitursäurederivate führt zu Verbindungen, die im tierischen Organismus wesentlich schneller abgebaut werden, als die entsprechenden nicht schwefelhaltigen Verbindungen. Als grobe, allgemeingültige Regel gilt, daß Thioderivate der Barbitursäureverbindungen, die sich als besonders geeignete Schlafmittel bewährt haben, auch zur Erzeugung einer universellen Anästhesie durch intravenöse Injektion besonders geeignet sind. Ebenso wie Diäthylbarbitursäure eine Barbitursäureverbindung ist, die nur schwach wirkt und nur langsam eliminiert wird, ist die entsprechende Diäthylthiobarbitursäure eine Verbindung unter den Thiobarbitursäuren, die nur von schwacher Wirkung ist und nur langsam eliminiert wird.

Abgesehen von geringen Abweichungen gleicht im wesentlichen die Wirkung der Thiobarbitursäuren, sowohl was die Dauer und Stärke als auch was die Wirkung angeht, derjenigen der N-methylierten Barbitursäuren. Für Thiobarbitursäuren wurde besonders beim Hund das Auftreten von Herzarrhythmien beobachtet (Gruber und Mitarbeiter[4, 5, 6]). Beim Menschen haben Untersuchungen der Herzfunktion während der Narkose kein Auftreten von Arrhythmie (Jarman[7], Betlach[8]) oder von Elektrokardiogrammveränderungen[9, 10, 11] ergeben. In unseren Versuchen am Kaninchen wurde ebenfalls Herzarrhythmie nicht gefunden.

Thiobarbitursäure soll häufig eine mäßige Blutdrucksteigerung verursachen[12, 13, 14], während Evipan mehr in der Richtung einer Blutdrucksenkung wirkt.

Auf die Atmung wirken Thiobarbitursäuren ebenso wie die N-methylierten Barbitursäuren depressiv und die Atemfrequenz wird wesentlich eher beeinflußt als die Tiefe der einzelnen Respirationen verändert wird.

Die Thiobarbitursäure kann, wie alle anderen Barbitursäureverbindungen, bisweilen im Tierversuch einen Glottisspasmus bewirken, wie er bei der Katze z. B. fast regelmäßig beobachtet wird (Burstein und Rovenstine[15]). Entsprechende spastische Störungen der Respiration (Husten, Niesen, Schlucken, eventuell Glottiskrampf) kann in seltenen Fällen auch beim Menschen nach allen Barbitursäuren in narkotischen Dosen auftreten.

[4] Gruber, C. M., C. M. Gruber jr. u. N. A. Colosi: J. Pharmacol. (Am.) **60**, 143 (1937). — [5] Gruber, C. M., V. G. Haury u. C. M. Gruber jr.: Ebenda **63**, 193 (1938). — [6] Gruber, C. M., C. M. Gruber jr. u. N. A. Colosi: Ebenda **63**, 215 (1938). — [7] Jarman, R.: Brit. J. Anesthes. **15**, 20 (1937). — [8] Betlach, C. J.: Proc. Staff Meet. Mayo Clin., Rochester **13**, 189 (1938). — [9] Carraway u. Carraway: Amer. J. Surg. **39**, 576 (1938). — [10] Volpitto u. Marangoni: J. Labor. a. clin. Med. (Am.) **23**, 575 (1938). — [11] Thomas, G.: Anesth. et Analg. **17**, 163 (1938). — [12] Haury, V. G., C. M. Gruber u. C. M. Gruber jr.: Arch. internat. Pharmacodynam. **62**, 342 (1939). — [13] Werner, H. W.: J. Pharmacol. (Am.) **60**, 122 (1937). — [14] Gruber, J.: Ebenda **60**, 143 (1937). — [15] Burstein, Ch. L., u. E. A. Rovenstine: J. Pharmacol. (Am.) **63**, 42 (1938).

Auf isolierte Streifen der Uterus[16] und Darmmuskulatur[17] wirken Thiobarbitursäuren annähernd ebenso wie andere Barbitursäureverbindungen.

Eigene Untersuchungen.

Bei experimentellen Untersuchungen von neuen Betäubungsmitteln mit dem Zweck, eine Grundlage für eine Beurteilung der Gefahr bei der klinischen Anwendung der Stoffe zu verschaffen, ist es von Wichtigkeit, außer der anästhetischen Wirkungsbreite die eventuell vorhandene depressive Wirkung der Stoffe auf Atmung und Kreislauf bei verschiedenen Narkosetiefen festzustellen. Obwohl Erfahrungen im Tierversuch nicht unmittelbar auf die Klinik überführt werden können, kann man gleichwohl durch vergleichende experimentelle Untersuchungen der neuen Stoffe einerseits und andererseits der Stoffe mit bekannten Eigenschaften und bekannter Giftigkeit wertvolle Aufschlüsse erhalten. Viele frühere Untersuchungen dieser Art leiden darunter, daß für den Grad der Narkosetiefe nur sehr ungenaue Kriterien benutzt worden sind. Eine genaue Bestimmung des narkotischen Wertes der verschiedenen Betäubungsmittel erhält man durch Messung der Reflexerregbarkeit mit Hilfe von in Stärke und Art reproduzierbaren und wohl definierten Reizen. Wie Juul[18] gezeigt hat, ist der quantitativ mit Reizhaaren nach von Frey bestimmte Cornealreflex ein guter Indikator für die Narkosetiefe bei der oberflächlichen Narkose, während eine quantitative Bestimmung der Reizschwelle des gekreuzten Extensorreflexes ein geeignetes Maß für die Wertung der tiefen Narkose ist.

Wir haben die Wirkung verschiedener Thiobarbitursäuren auf Atmung und Blutdruck durch fraktionierte Injektion dieser Stoffe und Erzeugung aller Narkosetiefen von der ganz oberflächlichen bis zum Atemstillstand untersucht. Zum Vergleich wurde mit gleicher Methode Evipan als Vertreter der N-methylierten Barbitursäuren untersucht.

Folgende drei Verbindungen wurden untersucht:

1. Äthyl-cyclohexenyl-thiobarbitursäure („Tiohexenal"),
2. Äthyl-isoamyl-thiobarbitursäure („Tioamytal"),
3. Äthyl-n-butyl-thiobarbitursäure („Tioaetbutal").

für die in Übereinstimmung mit den Benennungsgrundsätzen der dänischen Pharmakopoe die in Klammern angegebenen Namen vorgeschlagen seien.

Tiohexenal ist, soweit uns bekannt, zuvor nicht untersucht worden. Tioaetbutal wurde in einigen früheren Arbeiten kurz behandelt. Tioamytal ist identisch mit dem „Tio-ethamyl" der Amerikaner und hat nur beschränkte klinische Anwendung gefunden. Die bisher am häufigsten

[16] Gruber, C. M., u. C. M. Gruber jr.: Arch. internat. Pharmacodynam. **62**, 377 (1939). — [17] Gruber jr., C. M., u. C. M. Gruber: Ebenda **63**, 243 (1939). — [18] Juul, A.: Ebenda **64**, 445 (1940); ebenda **65**, 9 (1941); ebenda **66**, 220 (1941).

angewandte Verbindung [Äthyl-(1-methyl-butyl-)thiobarbitursäure (Pentothal] haben wir nicht beschaffen können.

Thiobarbitursäuren sind sehr schwer löslich, als Natriumsalz aber leicht löslich. Die Lösungen sind leicht gelb gefärbt.

Die untersuchten Thiobarbitursäuren wurden für uns von der Firma „Løvens kemiske Fabrik" (Leo), Kopenhagen, hergestellt, wofür wir unseren besten Dank aussprechen möchten.

Methode.

Als Versuchstiere dienten Kaninchen. In Äthernarkose wurden a. carotis communis und vena jugularis sowie n. ischiadicus freigelegt. Durchschneidung des n. ischiadicus. Das Tier wird in einen Wärmeschrank gelegt, und nach etwa $2^1/_2$ bis 3 Stunden, wenn jede Ätherwirkung verschwunden ist, werden ohne erneute Narkose eine Kanüle in die a. carotis zur Blutdruckregistrierung und eine Kanüle in die Vene zur intravenösen Injektion eingelegt. Der zentrale Stumpf des n. ischiadicus wird in einer Ludwigschen Reizelektrode angebracht und Muskel und Haut über der Elektrode stramm vernäht, so daß trotz Bewegung des Tieres die Elektrode ihre Lage nicht ändert.

Cornealreflex. Mit Hilfe der von Freyschen Reizhaare[19] wird der Schwellenreiz für die Auslösung des Reflexes bestimmt. Bei Anwendung der Reizhaare beruht der Reiz bekanntlich auf dem Druck, den das Haar pro Oberflächeneinheit ausübt, wenn es senkrecht auf die Cornea gedrückt wird. Wie auch frühere, in unserem Institut gewonnene Erfahrungen gezeigt haben, liegt die Maximalgrenze der Methode bei einem Reiz von etwa 70 g/mm². Wenn dieser Reiz keinen Cornealreflex auslösen kann, können auch wesentlich stärkere Reize keinen Reflex hervorrufen.

Bestimmung des gekreuzten Extensorreflexes. Durch elektrische Reizung des zentralen Ischiadicusstumpfes wird bekanntlich eine Extension im Fuß-, Knie- und Hüftgelenk der entgegengesetzten Seite ausgelöst. Die Kontraktion in den hier beteiligten Muskeln wird am leichtesten durch leichte Palpation des triceps surae, eventuell durch Inspektion der freigelegten Muskelgruppe beobachtet.

Zur Reizung des Nerven wird eine Ludwigsche Platinelektrode angewandt (Durchmesser des Drahtes 0,35 mm, Elektrodenabstand 3,5 mm) und als Reizstrom rein sinusförmiger Wechselstrom, der von einem Tongenerator erzeugt wird, benutzt. In Serie mit der Elektrode liegt ein variabler, selbstinduktionsfreier Widerstand und ein genaues Milliamperemeter. Durch Variation des Widerstandes wird die geringste Stromstärke gefunden, die gerade den Reflex auslösen kann. Der Reizstrom hatte in allen Versuchen eine Frequenz von 100/Sek. Es sei darauf hingewiesen, daß der gefundene Schwellenwert (in mA) zur Auslösung des Reflexes nur ein relativer ist, da er u. a. von der Elektrodengröße und dem Abstand der Elektroden abhängt, und da die Stromstärke im Nerven selbst unbekannt ist.

Der Blutdruck wurde auf die übliche Weise registriert. Zur Atmungsregistrierung dienten 4 federnde, gummibespannte Kapseln, die an der Brust- und Bauchwand befestigt wurden. Die Volumenänderungen in den Kapseln wurden mit Hilfe eines Marey-Tambours auf das Kymographion übertragen.

Die verschiedenen Barbitursäuren wurden intravenös (als Natriumsalze) in 5%iger Lösung eingespritzt, das Tionetbutal aber nur in 3%iger Lösung angewandt.

[19] Abderhalden, E.: Handb. d. biolog. Arbeitsmethod., Berlin 1923, Abt. IV, Teil 7, S. 606.

Atmung und Blutdruck bei verschiedenen Narkosetiefen.

Die untersuchten Barbitursäuren wurden intravenös in Einzeldosen von 10—15 mg pro kg injiziert. Jede einzelne Injektion dauerte 1 Minute und wurde mit 6—7minütigem Intervall wiederholt. Etwa 4—5 Minuten nach jeder Injektion wurde der Schwellenreiz für den Cornealreflex und den gekreuzten Extensorreflex bestimmt.

In Übereinstimmung mit früheren Untersuchungen aus unserem Institut[18] haben wir gefunden, daß ein Cornealreflex, der durch 70 g/mm² nicht mehr ausgelöst werden kann, auch durch stärkere Reize nicht hervorgerufen wird. Dieses Narkosestadium mit aufgehobenem Cornealreflex (im folgenden mit : 70 bezeichnet) entspricht einer „leichten chirurgischen Narkose“: Konjunktivalreflex und Kneifreflex sind erhalten, das Tier reagiert nicht mehr auf Stiche und Schneiden in die Haut und, in Rückenlage gebracht, bleibt es ruhig liegen, ohne den Versuch zu machen, seine Stellung zu ändern [entsprechend Stellreflex V (Magnus)[20]].

Der Schwellenreiz für den gekreuzten Extensorreflex schwankt beim wachen Tier recht erheblich (meist zwischen 0,3—0,5 mA), wahrscheinlich wegen der mehr oder weniger stark hemmenden Impulse im Zentrum. Sobald die cerebrale Exzitation nach der ersten Barbitursäuredosis überstanden ist, ergaben Schwellenwertsbestimmungen weitgehend übereinstimmende Ergebnisse. Bei aufgehobenem Cornealreflex („leichte chirurgische Narkose“) liegt der Schwellenreiz im Mittel für alle Versuche bei 1,15 mA. Ein Schwellenreiz von 1,5 mA entspricht in Übereinstimmung mit früheren Versuchen[18] der „vollen chirurgischen Narkose“, in der große operative Eingriffe ohne Reaktion von seiten des Tieres ausgeführt werden können. Ein Narkosestadium, das einen Schwellenreiz von 2,0 mA zeigt, entspricht einer sehr tiefen Narkose.

Blutdruck.

Nach Injektion von Evipan haben wir in allen Versuchen einen Blutdruckfall unmittelbar im Anschluß an die Injektion beobachtet. Eine typische Kurve ist in Abb. 1 wiedergegeben. Je schneller die Injektion vorgenommen wird, um so deutlicher ist das Absinken des Blutdruckes.

Bei der gewöhnlich benutzten Injektionsgeschwindigkeit (10 bis 15 mg/kg/Min.) betrug der nach Evipan auftretende Blutdruckfall im allgemeinen 20—40 mm Hg; gelegentlich erreichte der Fall bei sehr tiefen Narkosegraden (Schwellenwert für den Extensorreflex > 3—6 mA) 40 bis 60 mm Hg. In den Versuchen mit Thiobarbitursäuren war in den meisten

[20] Magnus, G.: Körperstellungen. Berlin 1924.

Fällen der Blutdruck von den Injektionen völlig unbeeinflußt. In einigen Fällen war ein Blutdruckfall von 10—15 mm Hg und in einem einzelnen Fall, wo der Schwellenreiz für den Extensorreflex 6 mA betrug, eine Senkung von 30 mm Hg vorhanden. Die in Abb. 2 wiedergegebene Kurve zeigt ein typisches Beispiel für eine vorübergehende Blutdrucksenkung nach Thiobarbitursäure, und im Versuch, der in Abb. 3 gezeigt ist, war eine Wirkung auf den Blutdruck nicht vorhanden.

Abgesehen von dem akuten Fall im Anschluß an die Injektion, war in praktisch allen Versuchen der Blutdruck völlig normal (> 100 mm Hg)

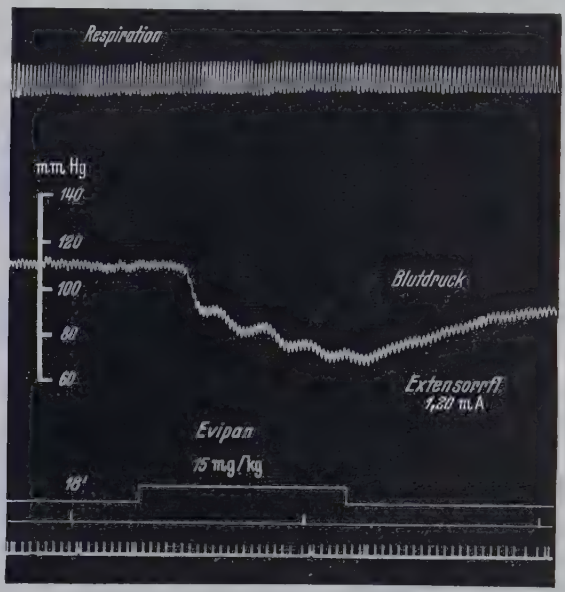


Abb. 1. Versuch Nr. 11. Kaninchen, 3,4 kg. Intravenöse Injektion von Evipannatrium in 5%iger Lösung, 15 mg/kg (zuvor wurde zu den Zeiten 0,6 und 12 Minuten auch 15 mg/kg injiziert). Nach der Injektion ist der Schwellenwert für den gekreuzten Extensorreflex 1,2 mA. Der Cornealreflex ist aufgehoben. Die beiden unteren Kurven enthalten die Zeitmarkierung in jeweils 2″ und 1′.

bis unmittelbar vor Eingabe der Dosis, die eine Atemlähmung bewirkte. In einem einzelnen Versuch (vgl. Abb. 2) war der Blutdruck etwa 80 mm Hg. Evipan und Thiobarbitursäuren verhielten sich in dieser Hinsicht vollkommen gleichartig. Wie zuvor erwähnt, hat man von verschiedenen Seiten behauptet, daß Thiobarbitursäuren im Gegensatz zu Evipan eine Blutdrucksteigerung verursachen[12, 13, 14]. In den hier vorliegenden Versuchen haben wir keine Tendenz dieser Art beobachtet.

Die Respiration.

Nach der ersten Injektion wird gleichzeitig mit dem Verschwinden des cerebralen Erregungszustandes die beim unnarkotisierten, aufgespannten Tiere schnelle Respirationsfrequenz langsam und normal. Mit zunehmender injizierter Gesamtdosis wird die Respirationsfrequenz langsam, aber die einzelnen Respirationen sind tief und regelmäßig. Im unmittelbaren Anschluß an die einzelnen Injektionen wurde in einigen Fällen außerdem eine vorübergehende Herabsetzung der Frequenz (Abb. 3) beobachtet, und

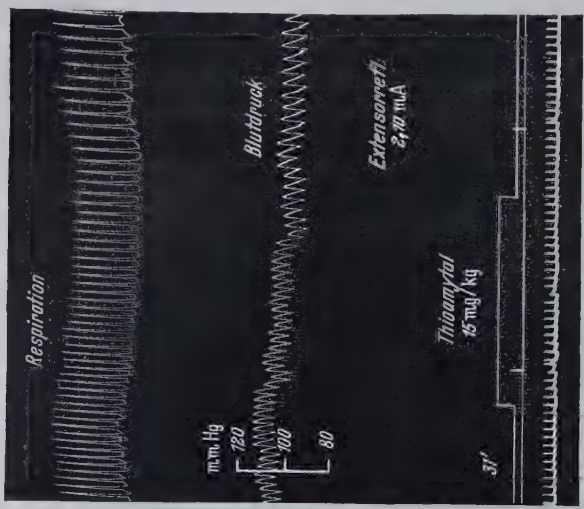


Abb. 3. Versuch Nr. 7. Kaninchen, 3,1 kg. Zum Zeitpunkt 31' wird Thioamytalnatrium (Natrium-äthyl-isoamylthiobarbitursäure) in 5 %iger Lösung 15 mg/kg intravenös injiziert. Zuvor waren 4 Dosen zu je 15 mg und eine Dosis zu 10 mg gegeben worden. Zeitpunkt für die erste Dosis 0'. Vor der Injektion Cornealreflex aufgehoben und der Schwellenreiz für den Extensorreflex 1,3 mA; 4 Minuten nach der Injektion (35') ist der Schwellenreiz 2,1 mA. Zeitmarkierung wie in den übrigen Abbildungen.

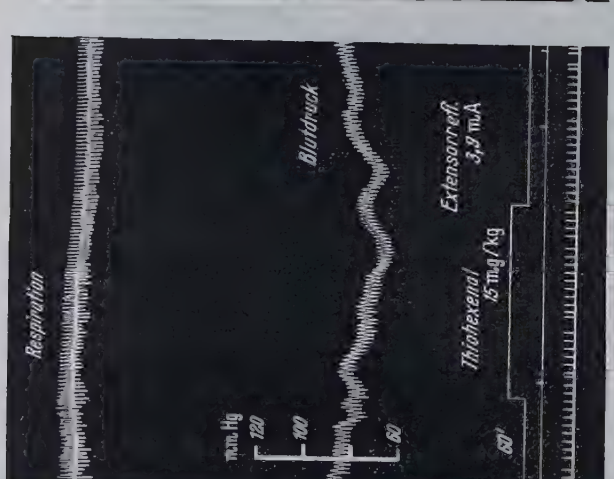


Abb. 2. Versuch Nr. 14. Kaninchen, 4,3 kg. Zum Zeitpunkt 60' intravenöse Injektion von Tiohexenalnatrium (Natrium-äthyl-cyclohexenyl-thiobarbitursäure) in 5 %iger Lösung, 15 mg/kg. Vorher wurde verschiedene Male die gleiche Dosis injiziert; erste Injektion zum Zeitpunkt 0'. Nach der Injektion war der Schwellenreiz für den Extensorreflex 3,9 mA. Die beiden unteren Kurven: Zeitmarkierung in jeweils 2'' und 1'.

in anderen Fällen trat gleichzeitig eine vorübergehende Verringerung der Atemtiefe auf. In wieder anderen Fällen zeigte die Respiration keine akute Beeinflussung durch die einzelnen Injektionen (Abb. 1 und 2). Evipan und Thiobarbitursäure hatten, was die Wirkung auf die Respiration angeht, ein völlig gleichartiges Verhalten.

Bei einem der „sehr tiefen chirurgischen Narkose" entsprechenden Narkosestadium (Schwellenreiz des Extensorreflexes etwa 2,0 mA) war die Respiration in sämtlichen Versuchen durchaus zufriedenstellend.

Wie Juul[18] gezeigt hat, kann Äther in Konzentrationen, die nur wenig unterhalb der letalen Konzentrationen liegen, keine stärkere Herabsetzung der spinalen Reflexerregbarkeit bedingen, als einem Schwellenreiz* für den gekreuzten Extensorreflex von etwa 2,5 mA entspricht. Im Gegensatz hierzu hat Allylisopropylbarbitursäure eine wesentlich kräftigere Wirkung auf die spinale Reflexerregbarkeit. Diesen Beobachtungen entsprechend haben wir in den vorliegenden Versuchen mit schnell eliminierten Barbitursäuren eine ausgesprochene depressive Wirkung auf die Funktion der spinalen Reflexe gefunden. In mehr als der Hälfte der Versuche konnte ein Reiz von > 15 mA keinen Extensorreflex auslösen, zu einem Zeitpunkt, an dem die Respiration noch ausreichend gut war. In anderen Versuchen führten erneute Injektionen zu einer Respirationslähmung, ohne daß der Schwellenwert für den Extensorreflex höher als bis 3—6 mA stieg. Evipan und Thiobarbitursäure zeigten auch hierin gleiches Verhalten.

Eliminationsgeschwindigkeit.

Die Elimination, d. h. die Summe aller entgiftenden Prozesse (Ausscheidung + chemische Umbildung) wurde auf folgende Weise bestimmt: Langsam und kontinuierlich wird in die Ohrvene des Kaninchens eine Lösung der betreffenden Barbitursäure eingespritzt, bis der Cornealreflex gerade aufgehoben wird (C : 70). Etwa 25—50 Minuten später, wenn die Tiere anscheinend wach sind, wird auf die gleiche Weise injiziert, bis der Cornealreflex wieder aufgehoben ist. Wenn man annimmt, daß die Toleranz des einzelnen Tieres gegen Barbitursäure bei der ersten und zweiten Injektion dieselbe ist, oder mit anderen Worten, daß beim gleichen Tiere bei beiden Injektionen die gleiche Menge Barbitursäure erforderlich ist, um das gleiche Narkosestadium hervorzurufen, muß die bei der zweiten Injektion notwendige Barbitursäure ein direkter Ausdruck für die in der Zeit zwischen beiden Injektionen eliminierte Barbitursäuremenge sein. Durch Berechnung der zum zweiten Male injizierten Dosis in Prozent der erstmalig injizierten Dosis erhält man einen Ausdruck der Elimination des betreffenden Stoffes in Prozenten der injizierten Menge.

* Verwendung der gleichen Elektrodengröße wie in den vorliegenden Versuchen.

Insgesamt wurden fünf derartige Versuche mit jeder der vier untersuchten Barbitursäuren ausgeführt. Die Ergebnisse dieser Versuche sind im Mittel folgende:

Von Evipan und Tioamytal werden eliminiert

etwa 55 % im Verlauf von 30 Minuten
„ 75 % „ „ „ 40 „

Von Tiohexenal und Tioaetbutal werden eliminiert

etwa 40 % im Verlauf von 30 Minuten
„ 60 % „ „ „ 40 „
„ 80 % „ „ „ 50 „

Zum Vergleich sei erwähnt, daß von Allylisopropylbarbitursäure im Laufe von knapp 8 Stunden bei Bestimmung mit der gleichen Methode etwa 50 % eliminiert werden (Juul[21]).

Narkotische Wirkungsbreite.

In fünf Versuchen mit jedem in Tabelle 1 aufgeführten Stoffe wurde die Dosis bestimmt, die gerade Aufhebung des Cornealreflexes bedingt,

Tabelle 1. Intravenöse Injektion der angeführten Stoffe bei insgesamt 15 Kaninchen mit einer Geschwindigkeit von 10 mg/kg/Min. in 5%iger Lösung. D. m. a. = diejenige Dosis, welche gerade den Cornealreflex aufhebt (C ÷ 70); D. m. l. = diejenige Dosis, welche Atemstillstand verursacht.

Substanz	D. m. a. mg/kg	D. m. l. mg/kg	D. m. l. / D. m. a.
Evipan-natrium	37	110	2,8
	34	97	2,9
	40	101	2,5
	39	97	2,5
	31	111	3,5
Mittelwert:	36,2	103	2,85
Natrium-äthyl-cyclohexenylthiobarbitursäure („Tiohexenal-Na“)	49	183	3,7
	39	131	3,3
	60	163	2,7
	51	269	5,3
	50	200	3,9
Mittelwert:	50,0	189	3,8
Natrium-äthylisoamyl-thiobarbitursäure („Tioamytal-Na“)	34	109	3,2
	29	122	4,2
	31	87	2,8
	28	83	3,0
	27	143	5,1
Mittelwert:	30,0	109	3,6

[21] Juul, A.: Arch. internat. Pharmacodynam. **66**, 220 (1941).

der mit der zuvor erwähnten Methode bestimmt wurde (in Tabelle 1 mit D. m. a. bezeichnet), sowie die Dosis, welche zum Atemstillstand führt (in Tabelle 1 mit D. m. l. bezeichnet). Da die untersuchten Stoffe sehr schnell eliminiert werden, ist es von großer Wichtigkeit, eine konstante Injektionsgeschwindigkeit anzuwenden. In sämtlichen Versuchen wurden die verschiedenen Stoffe mit einer Geschwindigkeit von 10 mg pro kg pro Minute eingespritzt.

Die Versuche zeigen, daß Evipan und Tioamytal zur Erzeugung einer „leichten chirurgischen Narkose" weitgehend die gleiche Wirkungsstärke haben, während Tiohexenal etwas schwächer gewirkt hat. Der Wirkungsbreitekoeffizient (4. Kolonne in der Tabelle) war für beide untersuchten Thiobarbitursäuren wesentlich größer als der für Evipan gefundene Koeffizient.

Besprechung der Ergebnisse.

In Übereinstimmung mit den nur wenig zahlreichen früheren Untersuchungen wurde gefunden, daß die hier untersuchten Thiobarbitursäuren, was die narkotisierenden Eigenschaften angeht, im wesentlichen das gleiche Verhalten zeigen, wie die N-methylierten Barbitursäuren. Das gleiche gilt für die Wirkung auf Blutdruck, Respiration und auf die Geschwindigkeit, mit der die Verbindungen eliminiert werden. Der einzige Unterschied im Vergleich zu Evipan, das regelmäßig einen vorübergehenden Blutdruckfall im unmittelbaren Anschluß an die Injektion bedingt, war, daß dieser Blutdruckfall nur in sehr geringem Grade oder gar nicht bei Injektion der Thiobarbitursäuren beobachtet wird.

Für die Wertung der in der Klinik angewandten Betäubungsmittel ist die Bestimmung der Narkosebreite von Wichtigkeit. Der Narkosebreitekoeffizient war für Tiohexenal und Tioamytal wesentlich größer als für Evipan. Die Anzahl der Versuche ist aber nicht groß genug, als daß dieses Ergebnis als absolut sichergestellt angesehen werden kann. Gruhzit und Mitarbeiter[22] haben in einer umfassenden Untersuchung den Wirkungsbreitekoeffizient für sechs Thiobarbitursäuren bei Ratten und Hunden untersucht. Für Tioamytal wurde in diesen Versuchen ein ebenso großer Koeffizient wie für Pentothal [Äthyl-(1-methyl-butyl-)thiobarbitursäure] und ein 20% größerer Koeffizient als für Evipan gefunden. In unseren Versuchen war der für Tioamytal gefundene Koeffizient etwa 25% höher als der Koeffizient für Evipan. Die genannte Arbeit bekräftigt daher die Annahme, daß Tioamytal eine größere therapeutische Wirkungsbreite hat als Evipan. Tiohexenal, das anscheinend früher nicht untersucht worden ist, hat die gleiche therapeutische Wirkungsbreite wie Tioamytal, aber wirkt beim Kaninchen etwas schwächer als Tioamytal und Evipan.

[22] Gruhzit, Dox, Rowe u. Dodd: J. Pharmacol. (Am.) **60**, 125 (1937).

Zusammenfassung.

1. Tiohexenal (Äthyl-cyclohexenyl-thiobarbitursäure), Tioamytal (Äthyl-isoamyl-thiobarbitursäure) und Tioaetbutal (Äthyl-n-butyl-thiobarbitursäure) wirken im wesentlichen ebenso wie Evipan (Methyl-cyclohexenyl-N-methyl-barbitursäure) auf die Reflexerregbarkeit, Atmung und den Blutdruck. Während Evipan unmittelbar im Anschluß an die Injektion einen vorübergehenden Blutdruckfall verursacht, wird dies nur in geringem Grade oder gar nicht bei den Thiobarbitursäuren beobachtet.

2. Die genannten Thiobarbitursäuren werden mit etwa gleicher Geschwindigkeit eliminiert wie Evipan.

3. Der Wirkungsbreitekoeffizient war für Tioamytal und Tiohexenal etwa 25% größer als der entsprechende Koeffizient für Evipan.

Aus den biologisch-chemischen Laboratorien von Medicinalco A. G., Kopenhagen.
(Direktor: Dr. med. habil. Erik Jacobsen.)

Die Diäthyl-thiobarbitursäure.

Ihre chemischen Eigenschaften und ihr Verhalten im Organismus.

Von

Inger Gad.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 10. März 1942.)

In jüngster Zeit sind die Thiobarbitursäuren häufig als intravenöse Narkotica angewandt worden. Über ihren Abbau und ihre Ausscheidung im Organismus ist jedoch nichts bekannt.

In der gegenwärtigen Arbeit soll über das Verhalten der Diäthyl-thiobarbitursäure im Organismus berichtet werden. Die Diäthyl-thiobarbitursäure ist in der Therapie zwar nicht angewandt worden, verschiedene Umstände haben aber bewirkt, daß wir diese Vertreterin der Thiobarbitursäuren bei unseren Untersuchungen zum Modell gewählt haben. Erstens, weil sie in verhältnismäßig großen Dosen verabreicht werden kann, zweitens, weil ihr Homolog, die Diäthyl-barbitursäure (das Veronal), praktisch genommen im Organismus nicht zersetzt wird, weshalb zu erwarten ist, daß die Zwischenprodukte hier leichter zu isolieren sind als die klinisch angewandten Thiobarbitursäuren, deren entsprechende Sauerstoffverbindungen viel rascher und vollständiger abgebaut werden als die Diäthyl-barbitursäure.

Die im Schrifttum erschienenen Darlegungen über die Diäthyl-thiobarbitursäure wie auch über andere Thiobarbitursäuren sind sehr spärlich. Deshalb war es notwendig, die chemische Natur des Stoffes im Hinblick auf seine spätere Isolierung aus biologischem Material eingehend zu untersuchen.

Chemische Eigenschaften.

Die benutzte Diäthyl-thiobarbitursäure wurde im hiesigen Laboratorium hergestellt und durch mehrmalige Umkristallisation in verdünntem Alkohol und Alkoholbenzolgemischen gereinigt. Sie ist ein schwach gelblicher, kristallinischer Stoff. Der Schmelzpunkt, der 176—177° beträgt, wurde in Fuchs' Mikroschmelzpunktapparat bestimmt. Die Kristalle sind lange Stengel mit leicht verwitterter Oberfläche, die bei 135° in kleinen, klaren Quadraten zu sublimieren beginnen, welche unmittelbar vor dem Schmelzen unregelmäßig werden. An dem nichtsublimierten Teil kristallisieren sich kleine unregelmäßige Kristalle aus.

Die Löslichkeit wurde in einer Reihe verschiedener Lösungsmittel bestimmt (s. Tabelle 1).

Tabelle 1.

Lösungsmittel	Löslichkeit g in 100 cm³	Lösungsmittel	Löslichkeit g in 100 cm³
Wasser 20°	0,095	Benzol 80°	2,5
Alkohol 20°	19,35	Eisessig 20°	5,7
Äther 20°	11,85	Eisessig 90°	28,2
Benzol 20°	0		

Das Na-Salz ist leicht löslich, in wässeriger Lösung aber unbeständig (s. später).

Zur Identifikation der Diäthyl-thiobarbitursäure hat man einerseits zwei Farbenreaktionen, andererseits das Xanthydrolderivat: I. In Ammoniakwasser gelöst gibt die Thiobarbitursäure bei Zusatz einer stark verdünnten Kuprihydroxydlösung eine smaragdgrüne Farbe. II. Bei Zusatz von ein paar Tropfen Kaliumferrocyanid-R (Ph. D.) zu der in 50 % Essigsäure gelösten Thiobarbitursäure entsteht bei Erwärmung auf dem Wasserbad eine rote Farbe. Beide Farbreaktionen werden von allen Thiobarbitursäuren bewirkt, von Barbitursäuren aber nicht.

Das Xanthydrolderivat wird auf die von J. C. Jespersen und K. Thoudahl Larsen (1) für Barbitursäuren angegebene, jedoch etwas modifizierte Weise hergestellt.

0,1 g Diäthyl-thiobarbitursäure wird in 1 cm³ Eisessig durch Erwärmung auf dem Wasserbad gelöst, mit 0,2 g Xanthydrol (Schering-Kahlbaum) versetzt und nochmals erwärmt, bis alles gelöst ist. Bei Abkühlung scheidet die Verbindung aus. Nach Abzentrifugierung wird sie in Benzol umkristallisiert. Der Schmelzpunkt ist 206—206,5° (Mikro). Der Stickstoffgehalt wird nach Kjeldahl bestimmt:

Gefunden: 7,34 %.
Berechnet: 7,36 % (für die Monoverbindung).

Die Herstellung des Dixanthydrolderivates erwies sich selbst bei Anwendung eines größeren Überschusses von Xanthydrol unmöglich. Dies gilt im Gegensatz zu den Barbitursäuren, die gewöhnlich die Dixanthydrolverbindung geben, auch von einer Anzahl anderer Thiobarbitursäuren.

p-Nitrobenzylderivate lassen sich aus Thiobarbitursäuren nicht herstellen, da diese sich während des Herstellungsprozesses spalten.

Quantitative Bestimmung. Die Diäthyl-thiobarbitursäure ist eine Säure, die so schwach ist, daß sie aus wässerigen, mit Natriumbicarbonat gesättigten Lösungen mit Äther quantitativ ausgeschüttelt werden kann. Nach der Abdestillierung des Äthers wird sie sodann durch Wägen bestimmt. Schmelzpunktbestimmung, Stickstoff- und Schwefelanalyse und Bildung des Xanthydrolderivates werden zur Identifizierung und Reinheitsbestimmung der ausgeschüttelten Thiobarbitursäure benutzt.

Dies Verfahren ist zur Anwendung bei der Isolierung aus biologischem Material näher ausgearbeitet worden.

Aus Kurve I, der elektrometrisch bestimmten Titrierungskurve der Diäthyl-thiobarbitursäure, erhellt, daß es tunlich ist, dieselbe (ebenso wie eine Reihe anderer Thiobarbitursäuren) gelöst in 25 % Alkohol mit 0,1 n Natriumhydroxyd, mit Thymolphthalein als Indikator, zu titrieren.

Mit Silbernitrat können Thiobarbitursäuren nicht titriert werden, da während der Titrierung eine Spaltung erfolgt.

Hydrolyse.

Es stellt sich heraus, daß eine wässerige Lösung des Natriumsalzes der Diäthyl-thiobarbitursäure, wenn sie einige Zeit gestanden hat, deutlich nach Schwefelwasserstoff riecht. Dies Verhalten wird zu erläutern gestrebt durch Beobachtung der Spaltung der Diäthyl-thiobarbitursäure einerseits in der äquivalenten Menge NaOH, andererseits in Überschuß derselben gelöst. Zugleich wird auch der Einfluß der Temperatur auf die Spaltungsgeschwindigkeit untersucht.

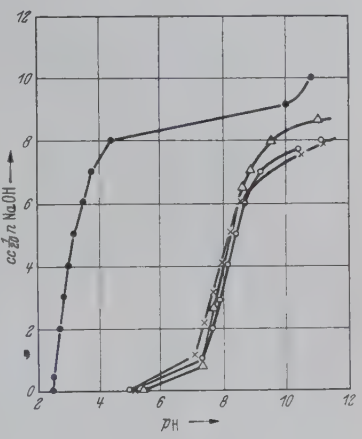
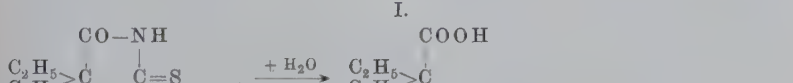


Abb. 1.
—×— 0,0964 g Diäthyl-malonsäure-monothiocarbamid in 25%ig. Alkohol,
—●— 0,0747 g Diäthyl-thiobarbitursäure in 25%igem Alkohol,
—○— 0,0747 g $NaHCO_3$-Fraktion aus Kaninchenurin in 25%ig. Alkohol,
—△— 0,0747 g Diäthyl-barbitursäure in 25%igem Alkohol.

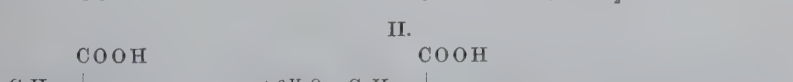
Die Spaltung des Na-Diäthyl-thiobarbiturates erfolgt nicht analog der Spaltung des Natriumsalzes der Diäthyl-barbitursäure, das ja, wie C. J. Toft-Madsen (2) gezeigt hat, in CO_2 und Diäthyl-acetylcarbamid gespalten wird, welch letzteres wiederum bei Erwärmung in Diäthyl-essigsäure und Harnstoff, eventuell in Diäthyl-essigsäureamid und Harnstoff, hydrolysiert wird, wie H. Ruhkopf (3) später beschrieben hat.

Die Hydrolyse der Diäthyl-thiobarbitursäure erfolgt in 2 Stufen nach folgenden Gleichungen:

I.



II.



Der erstere Prozeß, wobei sich Diäthyl-malonsäuremonothiocarbamid bildet, verläuft bei gewöhnlicher Zimmertemperatur; erst nach längerer Aufbewahrung wird eine Spaltung nach Gleichung II wahrgenommen. Überschuß von NaOH beschleunigt die Reaktion und fördert den Prozeß II.

Bei Erwärmung spaltet sich das Diäthyl-malonsäuremonothiocarbamid bei Vorhandensein von Alkali schnell in Diäthyl-malonsäure und Harnstoff (d. h. CO_2 und NH_3), weshalb lediglich der letzte Prozeß beobachtet werden kann.

Bei Erwärmung auf 90° mit der äquivalenten Menge NaOH bildet sich in den ersten 3 Stunden wesentlich Diäthyl-malonsäuremonothio-

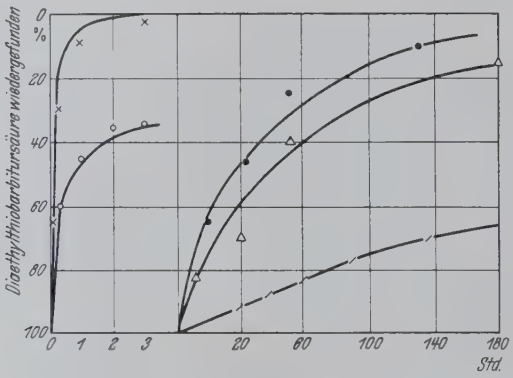


Abb. 2.
—○— in der äquivalenten Menge NaOH gelöst, 90°,
—|— „ „ „ „ „ „ , 20°,
—×— „ 0,025 n NaOH gelöst, 90°,
—Δ— „ 0,025 n „ „ , 20°,
—●— „ 0,075 n „ „ , 20°.

carbamid. nach weiterer dreistündiger Erwärmung ist alles in Diäthyl-malonsäure hydrolysiert.

Die Spaltungsgeschwindigkeit, die aus den Kurven (Abb. 2) erhellt, wird folgendermaßen bestimmt: 0,5 g Diäthyl-thiobarbitursäure wird in verschiedenen Konzentrationen von insgesamt 100 cm³ NaOH gelöst. In angemessenen Zwischenpausen werden Proben davon entnommen. Die alkalische Lösung wird dreimal mit Äther ausgeschüttelt, um festzustellen, ob sich analog mit Diäthyl-barbitursäure basische ätherlösliche Spaltungsprodukte gebildet haben sollten. Es zeigte sich, daß das nicht der Fall war. Die Lösung wird danach mit Salzsäure neutralisiert und es wird Überschuß an Natriumbicarbonat zugesetzt. Die nicht umgewandelte Diäthyl-thiobarbitursäure wird nun insgesamt dreimal mit Äther ausgeschüttelt, was zur quantitativen Ausschüttelung genügt. Der Äther wird getrocknet und abdestilliert. Die Diäthyl-thiobarbitursäure wird gewogen und mittels Schmelzpunktbestimmung identifiziert. Danach wird die $NaHCO_3$-Phase

mit Überschuß an Salzsäure versetzt und die bei der Hydrolyse gebildeten stärkeren Säuren, Diäthyl-malonsäuremonothiocarbamid bzw. Diäthyl-malonsäure, werden mit Äther aus der salzsauren Lösung ausgeschüttelt. Die entstandenen Spaltungsprodukte werden folgendermaßen identifiziert.

I. Diäthyl-malonsäuremonothiocarbamid Mol. 218.

Soviel ich weiß, ist diese Verbindung bisher nicht beschrieben worden. Sie wird am besten dadurch hergestellt, daß Diäthyl-thiobarbitursäure in zweimal der äquivalenten Menge NaOH gelöst und 24 Stunden bei 20° C stehengelassen wird. Die nichtumgewandelte Diäthyl-thiobarbitursäure wird sodann, wie vorhin beschrieben, aus der $NaHCO_3$-Lösung mit Äther ausgeschüttelt, wonach mit Mineralsäure saurer gemacht und das Thiocarbamid mit Äther ausgeschüttelt wird. Die Ausbeute ist etwa 50%. Weitere Reinigung wird durch Umkristallisation in Benzol erzielt.

Das Diäthyl-malonsäuremonothiocarbamid ist ein weißer kristallinischer Stoff, der bei 147—149° (Mikro) schmilzt. Die unregelmäßigen Kristalle verändern sich bei Erwärmung nicht. Die Schmelze geht unter lebhafter Luftentwicklung vor sich. Der Stoff ist löslich in Wasser und Alkali, wo er sich bei Erwärmung in Diäthyl-malonsäure spaltet. Er ist auch in Alkohol, Äther und warmem Benzol leicht löslich, während er in kaltem Benzol schwerlöslich und in Petroleumäther so gut wie unlöslich ist.

Das Diäthyl-malonsäuremonothiocarbamid ist eine viel stärkere Säure als die Diäthyl-thiobarbitursäure, wie aus der Titrierungskurve (Abb. 1) erhellt. Daraus ist ferner ersichtlich, daß das Thiocarbamid in 25%igem Alkohol mit 0,1 n NaOH (Thymolphthalein als Indikator) titriert werden kann. Für das bei der alkalischen Hydrolyse gebildete Thiocarbamid wurde auf diese Weise eine Äquivalenzzahl von 219 ermittelt (berechnet 219).

Auch Stickstoff- und Schwefelanalysen lieferten mit den berechneten übereinstimmende Ergebnisse:

N berechnet: 12,84%; S berechnet: 14,67%;
N ermittelt: 12,77%; S ermittelt: 14,67%.

Zum weiteren Beweis dafür, daß es tatsächlich die besagte Verbindung ist, dient die Herstellung des Xanthydrolderivates. Dasselbe wird auf die für die Diäthyl-thiobarbitursäure beschriebene Weise hergestellt. Als Umkristallisierungsmittel wurde Benzol angewandt, woraus das Derivat sich in großen unregelmäßigen Kristallen auskristallisiert, die bei 163—164° (Mikro) schmelzen. Eine Stickstoffanalyse nach Kjeldahl ergab einen Gehalt von 7,08% (berechnet 7,04%).

II. Diäthyl-malonsäure Mol. 80.

Die isolierte Diäthyl-malonsäure wird durch Umkristallisation in Benzol gereinigt. Der Schmelzpunkt wurde bei 127—128° (Mikro) gefunden; bei Beilstein wird 125° angegeben.

Di-p-Nitrobenzylderivat wurde aus 63 %igem Alkohol hergestellt.

Schmelzpunkt: 91,2° (Beilstein).

Schmelzpunkt ermittelt: 93—94° (Mikro).

Der Stickstoffgehalt wurde nach Kjeldahl bestimmt:

N berechnet: 6,48 %.

N ermittelt: 6,51 %.

Eine Untersuchung der Spaltung des isolierten Diäthyl-malonsäure-monothiocarbamids in Diäthyl-malonsäure wurde nicht unternommen, da diese beiden Stoffe auf Grund ihrer fast gleichen Lösungsverhältnisse in Gemischen schwer zu trennen sind.

Saure Hydrolyse.

Es wird angegeben, die Diäthyl-thiobarbitursäure werde durch Kochen mit Mineralsäuren in Diäthyl-barbitursäure umgewandelt (Beilstein). Eigene Untersuchungen haben ergeben, daß Diäthyl-thiobarbitursäure nach einstündigem Kochen mit 20 % HCl unverändert ist.

Oxydation.

Ryoiti Kitamura (4) hat gezeigt, daß Schwefel bei Behandlung von Diäthyl-thiobarbitursäure mit Kaliumhydroxyd und Wasserstoffsuperoxyd mit Sauerstoff vertauscht wird, so daß sich Diäthyl-barbitursäure bildet. Da die Originalarbeit nicht zugänglich war, konnten die Versuchsbedingungen nicht näher geprüft werden. Bei eigenen Untersuchungen stellte sich indessen heraus, daß, wenn Diäthyl-thiobarbitursäure in der Kälte behandelt wird, sich Diäthyl-barbitursäure bildet. Bei Erwärmung bildet sich Diäthyl-malonsäure. Wird Diäthyl-barbitursäure mit NaOH und H_2O_2 erwärmt, so bildet sich ebenfalls Diäthyl-malonsäure.

Die Versuchsbedingungen waren folgende: 0,5 g Diäthyl-thiobarbitursäure (oder Diäthyl-barbitursäure) wird in 25 cm³ 2 n NaOH gelöst und mit 10 cm³ 30 % H_2O_2 versetzt, sodann auf ein kochendes Wasserbad gebracht und dort 2 Stunden belassen. Ausführung der Ausschüttelung und Identifizierung der entstandenen Diäthyl-malonsäure wie vorhin beschrieben. Nach Verlauf der besagten Zeit ist die Umwandlung in Diäthyl-malonsäure vollständig. 0,5 g Diäthyl-thiobarbitursäure ergibt sonach 0.22 g Diäthyl-malonsäure. Der Reaktionsverlauf bei 20° wurde folgendermaßen untersucht: 0,5 g mit den vorstehend genannten Reagensmengen versetzte Diäthyl-thiobarbitursäure wird 2 Stunden bei 20° stehengelassen und sodann auf die gewöhnliche Weise ausgeschüttelt. Die entstandene Diäthyl-barbitursäure, die durch Ausschüttelung der $NaHCO_3$-Phase erzielt wird, wird durch Schmelzpunktbestimmung und p-Nitrobenzylderivat identifiziert. 0,50 g Diäthyl-thiobarbitursäure ergab 0,40 g Diäthyl-barbitursäure (theoretisch 0,46 g). Die denselben Versuchsbedingungen unterzogene Diäthyl-barbitursäure hält sich unverändert.

Werden die vorstehenden Versuche zusammengefaßt, so ergeben sich folgende Aufschlüsse über die Verhältnisse der Diäthyl-thiobarbitursäure: Die Thiobarbitursäure kann über das Monothiocarbamid in Diäthylmalonsäure hydrolysiert werden, während sie oxydiert werden kann zu der entsprechenden Diäthyl-barbitursäure, die selbst mittels durchgreifender Oxydation in Diäthyl-malonsäure umgewandelt wird.

Das Verhalten im Organismus.

Die Wirkung der Thiobarbitursäure auf den tierischen Organismus ist im Vergleich mit der der Barbitursäuren sehr kurzfristig; deshalb ist zu vermuten, daß sich die Elimination viel schneller vollzieht, gleichviel ob dieselbe in Gestalt von Zersetzung erfolgt oder als Ausscheidung, eventuell mit einem Koppelungsprozeß kombiniert.

Es wurde untersucht, ob die Umwandlung im Organismus sich in ähnlicher Weise vollzieht wie bei dem Versuch in vitro. Zu diesem Zweck wurden einerseits die Verhältnisse im ganzen Organismus, andererseits die Verhältnisse bei Leberperfusionsversuchen beobachtet, und im letzten Fall wurden auch Kontrollperfusionen mit den hypothetischen Zwischenprodukten — Diäthylmalonsäure-monothiocarbamid und Diäthyl-malonsäure — unternommen. Zu sämtlichen Versuchen wurden ausschließlich Kaninchen benutzt.

Analysenmethode.

Beschreibungen von Methoden zur Bestimmung von Thiobarbitursäuren in biologischem Material gibt es nicht. Die verschiedenen Methoden zur Isolierung von Barbitursäuren [s. Simesen (5)] haben sich entweder ungeeignet erwiesen oder überaus beschwerlich; deshalb wurde eine analytische Methode ausgearbeitet, die viel einfacher ist und durchaus befriedigende Ergebnisse liefert, wenn es sich nicht um allzu kleine Mengen handelt.

Das Prinzip ist das vorhin bei der Isolierung von Hydrolyseprodukten beschriebene, nämlich Ausschüttelung der Diäthyl-thiobarbitursäure aus einer $NaHCO_3$-Lösung, die im voraus bei mehr alkalischer Reaktion mit Äther ausgeschüttelt worden ist, wodurch verschiedene in dieser Beziehung gleichgültige Stoffe, wie z. B. Farbstoffe, ausgeschüttelt werden. Nach Zusatz von Säure zur $NaHCO_3$-Lösung werden sodann etwaige stärkere Säuren ausgeschüttelt.

Die Einzelheiten des Verfahrens sind folgende:

Eine angemessene Menge des zerriebenen Gewebes (im gegenwärtigen Falle 60—100 g Leber) wird mit Sand zerrieben, und mit 3—5 cm^3 konz. HCl und soviel Wasser verrührt, daß ein dicker Brei entsteht. Derselbe wird in einen 500-cm^3-Erlenmeyerkolben gebracht und etwa eine halbe Stunde lang

mit 250 cm^3 Äther kräftig geschüttelt. Sodann wird der Äther möglichst vollständig abgegossen und die Ausschüttelung noch zweimal mit je 100 cm^3 Äther wiederholt; das letzte Mal wird etwa 2 g Traganth zugesetzt, damit aller Äther abgetrennt werden kann. Die gesamten Ätherauszüge werden getrocknet, filtriert und eingedampft. Der Eindampfungsrest wird in einem geringen Überschuß von NaOH gelöst, mit NaCl gesättigt und sogleich dreimal mit Äther ausgeschüttelt, der weggegossen wird. Die nunmehr fast farblose Wasserphase wird mit HCl neutralisiert, mit Überschuß von $NaHCO_3$ versetzt und dreimal mit gleichen Teilen Äther ausgeschüttelt. Nach Zusatz von Kohle wird der Äther mit Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und abdestilliert. Die dergestalt isolierte, praktisch genommen schmelzpunktreine Diäthyl-thiobarbitursäure wird nach etwa zweistündigem Trocknen im Schwefelsäure-Exsikkator gewogen. Die $NaHCO_3$-Phase wird gesäuert und wiederum dreimal mit Äther ausgeschüttelt, der ebenfalls vor dem Trocknen mit Na_2SO_4 mit Kohle behandelt worden ist. Der Eindampfungsrest wird getrocknet und gewogen wie oben beschrieben.

Einem Gemisch von gleichen Teilen Blut und Wasser wird Weinsäure gerade bis zu saurer Reaktion zugesetzt (wird zuviel Weinsäure zugesetzt, so werden die Proteine ausgefällt) und sodann wird dreimal mit gleichen Teilen Äther ausgeschüttelt. Der Äther wird abdestilliert, der Eindampfungsrest in NaOH gelöst usw.

Harn wird ebenso behandelt wie Blut, jedoch ohne Verdünnung und anstatt der Weinsäure wird Salzsäure benutzt.

Die mit und ohne Zusatz erzielten Ergebnisse sind aus Tabelle 2 ersichtlich.

Tabelle 2a.

Organ	Gewicht g	Diäthyl-thiobarbitursäure zugesetzt g	Diäthyl-thiobarbitursäure wiedergefunden g	Wiedergefunden *) %	Schmelzpunkt	Xanthydrolderivat Schmelzpunkt
Leber	45	0	0,0035			
	38	0	0,0050			
	45	0,1038	0,0968	93,2	176–177°	201–202°
	38	0,0144	0,0144	100,0	170°	200–201°
	80	0,0122	0,0135	110,0	167°	200–201°
Blut	50	0	0,015			
	75	0	0,0027			
	60	0	0,0053			
	65	0	0,0051			
	50	0,1073	0,1056	98,5	173–175°	204–205°
	75	0,0109	0,0130	119,5	172°	
	60	0,0158	0,0190	120,0	170°	201–203°
	65	0,0159	0,0211	134,0	170–172°	

*) Nicht für Blindwerte korrigiert.

Tabelle 2b.

Organ	Gewicht g	Diäthyl-malonsäure zugesetzt g	Diäthyl-malonsäure wiedergefunden g	Wiedergefunden*) %	Schmelzpunkt
Leber	45	0	0,0031		
	38	0	0,0025		
	45	0,101	0,0948	93,8	120—122°
	38	0,0101	0,0098	96,6	
	80	0,0116	0,0115	99,0	
Blut	75	0	0,0029		
	60	0	0,0037		
	65	0	0,0038		
	75	0,0105	0,0100	95,0	
	60	0,0105	0,0092	88,0	
	65	0,0196	0,0180	92,0	125—127°

Organ	Gewicht g	Diäthyl-malonsäure-monothiocarbamid zugesetzt g	Diäthyl-malonsäure monothiocarbamid wiedergefunden g	Wiedergefunden*) %	Schmelzpunkt
Leber.....	80	0,0576	0,0523	91,0	144—148°
Blut.....	100	0,0564	0,0545	96,6	144—145°

*) Nicht für Blindwerte korrigiert.

Wenn Diäthyl-barbitursäure und Diäthyl-malonsäure vorhanden sind, können sie auf die vorstehend beschriebene Weise isoliert werden. Handelt es sich dagegen um etwaige Isolierung von Diäthyl-malonsäuremonothiocarbamid, so ist es notwendig, um seine quantitative Isolierung zu gewährleisten, daß die Analyse von Blut folgendermaßen geändert wird: 100 bis 200 cm³ Blut wird nach Zusatz von Weinsäure mit der vierfachen Menge Methanol ausgefällt. Nach Zentrifugierung wird der Rückstand ein paarmal mit Methanol gewaschen und dieses im Vakuum abdestilliert. Der Rest wird viermal mit Äther ausgeschüttelt. Die gesamten Ätherschichten werden dreimal mit NaOH ausgeschüttelt. Die alkalische Lösung wird neutralisiert, mit $NaHCO_3$ versetzt und auf die gewöhnliche Weise ausgeschüttelt. Nach diesem Verfahren können auch die übrigen Stoffe quantitativ isoliert werden. In bezug auf die anderen Organe war kein Grund zu Änderungen in der analytischen Methode vorhanden.

Die Ausscheidung.

Die Ausscheidung von Diäthyl-thiobarbitursäure wurde nach peroraler Verabreichung möglichst großer Dosen untersucht. Die Kaninchen erhielten je 0,7 g aufgeschwemmt in 10 cm³ Gummiwasser mit Hilfe einer Sonde 2 Tage nacheinander oder mit eintägiger Zwischenpause, je nachdem sie von der ersten Dosis beeindruckt waren. Der Harn wurde in Perioden von 2 oder 3 Tagen aufgesammelt. Es ist durchaus notwendig, den Harn

Tabelle 3.

Datum	Diäthyl-thio-barbitursäure verabreicht	In der $NaHCO_3$-Fraktion gefunden	In der sauren Fraktion gefunden	Diäthyl-thio-barbitursäure verabreicht	In der $NaHCO_3$-Fraktion gefunden	In der sauren Fraktion gefunden	Bei 2 Kaninchen nach Hydrolyse gefundene Diäthyl-thiobarbitursäure
	Kaninchen Nr. 1, Gewicht 2,1 kg			Kaninchen Nr. 2, Gewicht 2,0 g			
28. 2. – 2. 3.	0	0,0097 g	0,0090 g	0	0,0110 g	0,0044 g	
3. 3. 4. 3.	0,75 g 0,75 g	0,595 g Schmp. 166 166,5°	0,169 g	0,60 g 0,75 g	0,424 g Schmp. 164 165°	0,1890 g	
5. 3. – 6. 3.	0	0,0475 g Schmp. 165–166°	0,143 g	0	0,235 g Schmp. 166–167,5°	0,135 g	
7. 3. – 10. 3.	0	0,0245 g	0,153 g	0	0,0191 g	0,150 g	
Insgesamt 1,5 g		0,667 g = 44,5%		1,35 g	0,678 g = 50,1%		
12. 3. 13. 3. 14. 3.	0,70 g 0,70 g 0	0,891 g Schmp. 166–166,5°	0,3004 g	0,70 g 0,70 g 0	0,538 g Schmp. 166–167°	0,18 g	0,105 g Schmp. 187–190°
15. 3. – 17. 3.	0	0,04 g Schmp. 168–170°	0,078 g	0	0,029 g Schmp. 168–169°	0,043 g	0,027 g Schmp. 186–189°
Insgesamt 1,4 g		0,931 g = 66,5%		1,4 g	0,567 g = 40,4%		
	Kaninchen Nr. 3, Gewicht 2,3 g			Kaninchen Nr. 4, Gewicht 2,7 g			
25. 8. 26. 8.	0,70 g 0	0,305 g Schmp. 164 165°	0,158 g	0,70 g 0	0,355 g Schmp. 164–165°	0,047 g	0,159 g Schmp. 187–190°
27. 8. – 28. 8.	0	0,009 g	0,086 g	0	0,0115 g	0,073 g	
29. 8. 30. 8. – 2. 9.	0,70 g 0	0	0,111 g	0,70 g 0	0,717 g Schmp. 165–166°	0,193 g	0,119 g Schmp. 186–189°
Insgesamt 0,70 g		0,314 g = 44,9%		1,4 g	1,08 g = 76,6%		

in verdünnter Schwefelsäure aufzusammeln, da man sonst allzu große Blindwerte erhält und die Diäthyl-thiobarbitursäure sich auch spaltet.

Der Harn wurde erfolglos auf Thioharnstoff qualitativ untersucht, dagegen erfolgte vermehrte Ausscheidung gepaarter Glucuronsäuren. Die Ergebnisse der quantitativen Bestimmung sind in Tabelle 3 niedergelegt:

A. $NaHCO_3$-Fraktion. Wie man sieht, werden 40,4—76.6 % anscheinend unverändert ausgeschieden.

Bei näherer Untersuchung stellte sich indessen heraus, daß die „$NaHCO_3$-Fraktion" ein Gemisch aus $^2/_3$ Diäthyl-thiobarbitursäure und $^1/_3$ Diäthyl-barbitursäure war, wie aus folgendem erhellt: 1. Der Schmelzpunkt für den von den Kaninchen ausgeschiedenen Stoff liegt selbst nach wiederholten Umkristallisationen in verdünntem Alkohol oder Benzol um 166—167°. Ein Gemisch von $^2/_3$ Diäthyl-thio- und $^1/_3$ Diäthyl-barbitursäure schmilzt nach der Umkristallisation bei 169—170°. In beiden Fällen ist das Verhalten der Kristalle während der Erwärmung das für die Diäthyl-thiobarbitursäure Charakteristische. 2. Eine an dem ausgeschiedenen Gemisch angestellte Elementaranalyse lieferte folgendes Ergebnis:

Ermittelt:	Berechnete Werte für $^2/_3$ Diäthyl-thio- und $^1/_3$ Diäthyl-barbitursäure:
C 49,40 %	C 49,40 %
H 6,42 %	H 6,18 %
O 19,05 %	O 19,33 %
N 14,50 %	N 14,40 %
S 10,63 %	S 10,65 %

3. Die Untersuchung des Absorptionsspektrums im ultravioletten Gebiet ergab folgendes: Die Diäthyl-thiobarbitursäure hat ein charakteristisches Absorptionsspektrum mit Maximum bei 289 mμ (s. Abb. 3). Diäthyl-barbitursäure in derselben Konzentration hat in diesem Gebiete keine charakteristische Absorptionskurve. Es stellte sich heraus, daß das ausgeschiedene Gemisch eine Absorptionskurve hatte, die mit der der Diäthyl-thiobarbitursäure identisch war, der Unterschied zwischen den abgelesenen Extinktionen entsprach aber einem Konzentrationsverhältnis von 0,64. Berechnet nach den Schwefelanalysen ist das Verhältnis 0,66. 4. Durch Oxydation mit alkalischem Wasserstoffsuperoxyd bei gewöhnlicher Zimmertemperatur wird das Gemisch vollständig in Diäthyl-barbitursäure mit Schmelzpunkt bei 187—190° umgewandelt. 5. Nach 24stündiger alkalischer Hydrolyse bei 20° kann Diäthyl-malonsäuremonothiocarbamid mit Schmelzpunkt bei 144—146° isoliert werden. 6. Nach mehreren ver-

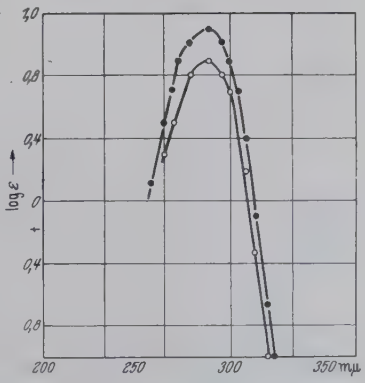


Abb. 3.
—×— Diäthyl-thiobarbitursäure 1:10000 abs. Alkohol,
—○— $NaHCO_3$-Fraktion aus Kaninchenurin 1:10000 abs. Alkohol.

geblichen Versuchen gelang es, nach Erwärmung mit Xanthydrol in Eisessig auf die vorhin beschriebene Weise, das Xanthydrolderivat der Diäthyl-thiobarbitursäure mit Schmelzpunkt bei 205—207° auszufällen. Merkwürdig genug lieferte die Diäthyl-barbitursäure kein Dixanthydrolderivat. 7. Es gelang, eine winzige Menge p-Nitrobenzylderivat herzustellen, das bei 195—197° schmolz und dessen Kristallform der p-Nitrobenzylverbindung der Diäthyl-barbitursäure entsprach. Mit reiner Diäthyl-thiobarbitursäure erhält man, wie gesagt, kein p-Nitrobenzylderivat.

Es ist demnach erwiesen, daß die von den Kaninchen ausgeschiedene „$NaHCO_3$-Fraktion" zu zwei Dritteln aus Diäthyl-thiobarbitursäure besteht. Das letzte Drittel besteht aller Wahrscheinlichkeit nach aus Diäthyl-barbitursäure. Es dürfte schwer halten, diese zwei Komponenten zu trennen, da ihr Verhalten auf so vielen Gebieten, insbesondere in betreff der Löslichkeit, gleichartig ist.

B. Saure Fraktion. Aus Tabelle 3 erhellt ferner, daß eine vermehrte Ausscheidung stärkerer Säuren stattfindet. Dabei handelt es sich großenteils um Phenolcarbonsäuren, die sicherlich keine direkte Beziehung zum Umsatz der Diäthyl-thiobarbitursäure haben. Es war jedoch möglich, einen Stoff zu isolieren, der keine Phenolreaktion gab. Da es nicht gelang, ihn ganz rein herzustellen, mußte vorderhand von seiner genauen Identifizierung abgesehen werden. Es kann indessen ausgesprochen werden, daß er eine stickstoffhaltige, schwefelfreie Säure ist, die nach mehrmaliger Umkristallisation einen sehr unscharfen Schmelzpunkt um 180° hat. Es kann sonach keineswegs von Diäthyl-malonsäure, die bei 127—128° schmilzt, die Rede sein.

Hydrolyse des Harns. Nachdem die obengenannten Stoffe aus dem Harn entfernt sind, wird derselbe mit 10 cm^3 konz. HCl versetzt und 1 Stunde lang unter Rückkühlung gekocht. Sodann wird er nochmals auf die gewöhnliche Weise ausgeschüttelt. Die dergestalt gewonnene $NaHCO_3$-Fraktion besteht ausschließlich aus Diäthyl-barbitursäure. Die Menge ist aus Tabelle 3 ersichtlich (die gefundene Menge stammt von 2 Kaninchen, deren Harn vor der Hydrolyse vermischt worden war). Die Diäthyl-barbitursäure wurde durch Schmelzpunkt und p-Nitrobenzylderivat identifiziert. Zur Kontrolle wurde der folgende Versuch ausgeführt: Eine mit 0,10 g Diäthyl-thiobarbitursäure versetzte Harnprobe wurde auf die beschriebene Weise hydrolysiert. Nach diesem Prozeß wurde die Diäthyl-thiobarbitursäure unverändert wiedergefunden. Demnach ist es als erwiesen zu betrachten, daß die Kaninchen noch weitere 5—10 % der verabreichten Menge Diäthyl-thiobarbitursäure ausscheiden, und zwar in Gestalt von Diäthyl-barbitursäure gekoppelt in der einen oder anderen Art hydrolysierbarer Verbindung.

Perfusionsversuche.

Um wenn möglich ein deutlicheres Bild von dem Wege der Zersetzung zu erlangen, wurde eine Reihe Perfusionsversuche angestellt an isolierter überlebender Leber mit Blut unter Zusatz teils von Diäthyl-thiobarbitursäure, teils von Diäthyl-malonsäuremonothiocarbamid oder Diäthyl-malonsäure. Die Technik war die von V. Larsen (6) beschriebene. Für die Ausführung der Leberperfusionen bin ich V. Larsen vom hiesigen Laboratorium zu großem Danke verpflichtet.

Bei Perfusion mit Diäthyl-thiobarbitursäure ergab sich, daß etwa 70 % wiedergefunden wurden (s. Tabelle 4). Auch bei Perfusion bildet sich eine unbekannte stärkere schwefelfreie Säure, die jedoch mit der im Harn ausgeschiedenen wahrscheinlich nicht identisch ist. Auch diese Säure kann nicht Diäthyl-malonsäure sein.

Die Perfusionen mit Diäthyl-malonsäuremonothiocarbamid und Di-äthyl-malonsäure wurden unternommen, um ausfindig zu machen, ob es möglich sein würde, diese Stoffe, falls sie während der Perfusion mit Diäthyl-thiobarbitursäure gebildet werden, zu finden. Aus Tabelle 4 erhellt, daß es möglich ist, das Thiocarbamid zu isolieren, dagegen muß man damit rechnen, daß Diäthyl-malonsäure in solch winzigen Mengen, wie die in Frage kommenden, schwierig zu finden sein wird.

In den verschiedenen Ausschüttelungen des Perfusionsblutes und des Lebergewebes nach den Perfusionen mit Diäthyl-thiobarbitursäure wurde indessen weder Diäthyl-malonsäure noch Thiocarbamid gefunden. Da letzteres offenbar langsamer zersetzt wird als die Thiobarbitursäure selbst (Tabelle 4), ist es folglich unwahrscheinlich, daß der Abbau sich auf diesem Wege vollzieht.

Tabelle 4.
Diäthyl-thiobarbitursäure.

Datum	Gewicht des Kaninchens kg	Perfusionszeit Std.	Angewandte Stoffmenge g	In der Leber wiedergefunden	Im Blute wiedergefunden	Insgesamt wiedergefunden
2. 11. 40	2,3	1	0,5013	0,0840 g, Schmp. 176°	0,263 g, Schmp. 176°	0,347 g, = 69 %
31. 1. 41	2,4	2	0,5037	0,0910 g, Schmp. 176,5°	0,268 g, Schmp. 177°	0,359 g, = 71,2 %
26. 2. 41	2,4	2	0,5038	0,137 g, Schmp. 176–177°	0,245 g, Schmp. 177–178°	0,382 g, = 75,6 %
				Diäthyl-malonsäuremonothiocarbamid.		
24. 2. 41	2,3	2	0,4988	0,043 g, Schmp. 144–146°	0,376 g, Schmp. 144–146°	0,419 g, = 84 %
				Diäthyl-malonsäure.		
31. 10. 40	2,3	1	1,000	0,625 g, Schmp. 125–126°	0,140 g, Schmp. 126°	0,2025 g, = 20,3 %

Zur Erhärtung des Beweises, daß der Abbau in der Leber nicht über Diäthyl-malonsäuremonothiocarbamid stattfindet, wurde vor und nach Perfusion mit Diäthyl-thiobarbitursäure bzw. Thiocarbamid eine Schwefelbestimmung in dem mit Äther ausgeschüttelten Blute ausgeführt. Bei der Untersuchung des Schwefelgehalts wurde die übliche Sonderung in Sulfatschwefel (anorganisches Sulfat + Alkylsulfat) und neutralen Schwefel gemacht. Alle Analysen wurden an je 10 cm³ trichloressigsaurem Filtrat von Totalblut (nach Ausschüttelung der Diäthyl-thiobarbitursäure und des Thiocarbamids) durch Ausfällung mit $BaCl_2$ nach Zusatz von 5 cm³ verd. HCl ausgeführt. Das ausgefällte $BaSO_4$ wurde, nachdem es getrocknet und ausgeglüht war, auf der Mikrowaage gewogen. Auf die Weise erhält man das anorganische Sulfat ohne Vorbehandlung des Filtrats. Die Gesamtmenge Sulfatschwefel erhält man durch halbstündiges Kochen mit Rückkühlung des mit 2 cm³ konz. HCl versetzten Filtrats. Nach Neutralisation mit 30% NaOH (Methylrot) werden 5 cm³ verd. HCl und ein paar Kristalle $BaCl_2$ usw. zugesetzt. Den Totalschwefel erhält man durch Einäscherung von 10 cm³ Filtrat in einem mit 3 cm³ einer Lösung von $Zn(NO_3)_2 - KClO_3$ (7) beschickten Tiegel. Nach der Abkühlung wird der Ausglühungsrest in 5 cm³ verd. HCl gelöst und ausgefällt wie oben [s. übrigens Øllgaard (7)].

Tabelle 5 zeigt, daß nach Perfusion mit Diäthyl-thiobarbitursäure besonders in bezug auf den neutralen Schwefel ein kräftiger Anstieg im Schwefelgehalt stattfindet. Der Anstieg im Totalschwefelgehalt entspricht 77% der verschwundenen Diäthyl-thiobarbitursäurenmenge.

Tabelle 5.

24. Februar 1941: Perfusion mit Diäthyl-malonsäure-monothiocarbamid			26. Februar 1941: Perfusion mit Diäthyl-thiobarbitursäure		
	Vor der Perfusion mg%	Nach der Perfusion mg%		Vor der Perfusion mg%	Nach der Perfusion mg%
Anorg. S ...	3,51	3,59	Anorg. S ...	2,28	1,72
Alkyl-S	0,52	0,86	Alkyl-S	1,30	1,23
Neutral-S...	2,43	2,71	Neutral-S...	1,30	3,55
Total-S	6,44	7,3	Total-S	4,07	6,60

Im Vergleich hiermit bewirkt die Perfusion mit Diäthyl-malonsäuremonothiocarbamid nur einen geringfügigen Anstieg in der Totalschwefelmenge; er entspricht nur 28% der umgewandelten Menge. In diesem Falle weist die Neutralschwefelmenge fast keine Zunahme auf. Hieraus darf gefolgert werden, daß die Umgestaltung der Thiobarbitursäure nicht über das Thiocarbamid stattfindet, denn in solchem Falle wäre keine nennenswerte Vermehrung der Schwefelmenge, und zwar besonders der des neutralen Schwefels wahrgenommen worden.

Besprechung der Ergebnisse.

Bei Kaninchen werden nach Verabreichung von Diäthyl-thiobarbitursäure 40—70 % davon als Gemisch von $^1/_3$ Diäthyl-barbitursäure und $^2/_3$ unveränderter Thiobarbitursäure ausgeschieden. Ferner werden 5—10 % als reine Diäthyl-barbitursäure in der einen oder anderen leicht hydrolysierbaren Verbindung ausgeschieden. Der Rest, etwa 20—50 % der verabfolgten Menge, wird nicht durch den Harn ausgeschieden, und die Genauigkeit der analytischen Methode ist so groß, daß so erhebliche Verluste während der Isolierung für die Differenz nicht verantwortlich gemacht werden können.

Angesichts der Bildung von Sulfaten und des fehlenden Nachweises von Diäthyl-malonsäuremonothiocarbamid nach Perfusion mit Diäthyl-thiobarbitursäure dünkt es wahrscheinlich, daß der Abbau nicht entsprechend der bei alkalischer Reaktion in vitro stattfindenden Hydrolyse vor sich geht.

Daß weder im Harn noch im Perfusionsblut und Leber Thioharnstoff nachweisbar war, deutet darauf, daß eine Spaltung in Diäthyl-malonsäure sich auch nicht auf anderem Wege vollzieht.

In dieser Verbindung ist zu bemerken, daß Thioharnstoff unverändert vom Organismus (8) ausgeschieden wird.

Eigentümlich ist es, daß bei den Leberperfusionsversuchen keine Diäthyl-barbitursäure nachgewiesen wurde. Dieser Umstand könnte darauf deuten, daß die Umwandlung von Thiobarbitursäure in Barbitursäure nicht in der Leber stattfindet; aber diese Frage muß vorderhand unbeantwortet bleiben. Hier muß erwähnt werden, daß die Leber, nachdem die Perfusion mit Diäthyl-thiobarbitursäure einige Zeit gedauert hat, anscheinend vergiftet wird; jedenfalls werden bei ein- und zweistündiger Perfusion gleichgroße Mengen umgewandelt.

Wie zuvor erwähnt, wurden nach Verabfolgung von Diäthyl-thiobarbitursäure noch einige weitere, einstweilen nicht identifizierte Säuren isoliert. Es ist möglich, daß es sich um Reaktionsprodukte handelt, die der Thiobarbitursäure beizuzählen sind, das ist aber keineswegs sicher. Die Einverleibung der großen Giftstoffmengen, wovon hier die Rede ist, ist offenbar eine so schwere Belastung der parenchymatösen Organe, daß eine Anzahl Stoffwechselprodukte ausgeschieden werden, die früher nicht ausgeschieden wurden. Darauf deutet auch die Ausscheidung gepaarter Glucuronsäuren, die im Harn gefunden wurden.

Alles in allem deuten die Versuche darauf, daß die Diäthyl-thiobarbitursäure im Organismus nicht hydrolytisch zersetzt wird, denn es wurden keine Spuren der hydrolytischen Spaltungsprodukte gefunden. Ein oxydativer Abbau kann jedenfalls stattfinden, was dadurch erhärtet wird, daß ein großer Teil der verabfolgten Diäthyl-thiobarbitursäure als ein Oxydationsprodukt — Diäthyl-barbitursäure — ausgeschieden wird.

Zusammenfassung.

Es wurde eine Untersuchung über die chemischen Eigenschaften der Diäthyl-thiobarbitursäure und ihr Verhalten im Organismus angestellt. Schmelzpunkt 176—177° (Mikro). Schmelzpunkt des Monoxanthydrolderivates 206—206,5° (Mikro).

In alkalischer Lösung wird die Diäthyl-thiobarbitursäure über Diäthyl-malonsäuremonothiocarbamid in Diäthyl-malonsäure hydrolysiert. Erwärmung in salzsaurer Lösung verändert die Diäthyl-thiobarbitursäure nicht. Mit Wasserstoffsuperoxyd in alkalischer Flüssigkeit bildet sich Diäthyl-barbitursäure, bei Erwärmung Diäthyl-malonsäure.

Bei peroraler Verabfolgung scheiden Kaninchen im Harn 40—70% als Gemisch von $^2/_3$ Diäthyl-thio- und $^1/_3$ Diäthyl-barbitursäure aus. Ferner scheiden sie 5—10% der verabfolgten Menge Diäthyl-thiobarbitursäure als Diäthyl-barbitursäure in irgendeiner hydrolysierbaren Verbindung aus. Es wird auch eine noch nicht identifizierte stärkere schwefelfreie, stickstoffhaltige Säure ausgeschieden, deren Beziehung zu der verabfolgten Diäthyl-thiobarbitursäure unbekannt ist.

Mit Hilfe von Leberperfusionsversuchen wurde gezeigt, daß die Zersetzung der Diäthyl-thiobarbitursäure sich nicht, wie bei den Versuchen in vitro, auf hydrolytischem Wege vollzieht. Während der Perfusion verschwinden etwa 30—40% der zugesetzten Diäthyl-thiobarbitursäure.

Die vor und nach der Perfusion mit Diäthyl-thiobarbitursäure angestellte Untersuchung des Schwefelgehaltes im Blute ergab einen Anstieg in der Totalschwefelmenge, der etwa 75% der verschwundenen Thiobarbitursäure entsprach.

Bei den Leberperfusionsversuchen bildete sich keine Diäthyl-barbitursäure.

Literatur.

1) Jespersen, J. C., u. K. Thoudal Larsen: Dansk Tidsskr. f. Farmaci **8**, 212 (1934). — 2) Toft-Madsen, C. J.: Ebenda S. 62. — 3) Ruhkopf, H.: Ber. **9**, 938 (1940). — 4) Kitamura, R.: C. **37**, II, 2840. — 5) Simesen: Undersøgelser over nogle Barbitursyrederivaters Forhold i Organismen. Hblt.schr. 1939. — 6) Larsen, V.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 43 (1940). — 7) Øllgaard: Undersøgelser over Blodets vandopløselige Svovlforbindelser. Hblt.schr. 1937. — 8a) Lange, K.: Über das Verhalten der Schwefelharnstoffe im tierischen Körper. Diss. Rostock 1892; b) Pohl: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **51**, 341 (1904); c) Marudo: Hoppe-Seylers Z. **67**, 28 (1910).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Wien.

Über die Dynamik der Harnblasenmuskulatur.

Von

Fr. v. Brücke und R. Knebel.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 7. Januar 1942.)

Der Einfluß der peripheren Nerven und des Zentralnervensystems auf den Mechanismus der Harnblasenentleerung ist seit den eingehenden Untersuchungen von Langley und Anderson (1), Elliot (2) u. a. bekannt, über die Dynamik der Harnblasenmuskulatur, ihre isometrische und isotonische Kontraktionsfähigkeit, sind wir aber nur unvollkommen unterrichtet. Zwar wurden zuerst die von Stewart (3) beschriebenen rhythmischen Harnblasenbewegungen der Katzenharnblase des öfteren zu pharmakologischen Untersuchungen am isolierten und auch in situ belassenen Präparat herangezogen [Lit. s. Dennig (4)], aber erst in neuerer Zeit haben Henderson und Roepke (5) und Mellanby und Pratt (6) pharmakologische Einwirkungen getrennt auf isometrische und isotonische Kontraktionsformen geprüft. Um aber die beiden Kontraktionsarten näher analysieren zu können, ist es erforderlich, die Abhängigkeit der isometrischen und isotonischen Kontraktionen vom Dehnungszustand der Blasenmuskulatur zu untersuchen. Sind die Beziehungen zwischen Dehnungszustand und Kontraktilität bzw. Motilität der Harnblase bekannt, so wird es möglich, pharmakologische Einflüsse auf die Dynamik der Blasenmuskulatur nicht nur in qualitativer, sondern auch in quantitativer Hinsicht auszuwerten. Außerdem können wir durch Ermittlung der Beziehung zwischen Druck und Volumen im Ruhezustand der Blase Aufschluß über den „Tonus" ihrer Muskulatur und seine Beeinflußbarkeit durch Pharmaka gewinnen.

Methodik.

Die im folgenden beschriebenen Versuche wurden an 12 Katzen im Gewicht von 2—3 kg ausgeführt. 2 Tiere waren männlich, die übrigen weiblich (eines davon gravid). Als Narkoticum diente Chloralose (0,07 kg), die durch eine im Ätherrausch in die Vena femoralis eingebundene Kanüle injiziert wurde.

Zu Beginn des Versuches führten wir eine Trachealkanüle ein, um das Tier nötigenfalls künstlich beatmen zu können. Mit einem Metallkatheter von 2,6 mm lichter Weite und 3,5 mm äußerem Durchmesser mit seitenständiger Öffnung wurde in die Blase eingegangen, etwas Harn abgelassen und dann der Katheter verschlossen, um das Eindringen von Luft zu verhindern. Bei männlichen Tieren mußte der Katheter durch einen Längsschnitt in der Urethra eingeführt werden. Nach Öffnen der Bauchhöhle durch einen Schnitt von Xiphoid bis zur Symphyse unterbanden wir beide Ureteren möglichst blasennahe und durchtrennten sie

nierenwärts von der Unterbindungsstelle, um den Harn frei abfließen zu lassen. Nach Aufsuchen der Urethra wurde sodann der Katheter durch zwei derbe Ligaturen so eingebunden, daß seine Spitze am tiefsten Punkt der Harnblase lag.

Die Tiere wurden nun mit dem Operationsbrett in eine Blechwanne von etwa 60 Liter Inhalt so versenkt, daß die unteren Extremitäten und die mit Gewichtshaken aufgespreizte Peritonealhöhle ganz mit körperwarmer 0,9%iger NaCl-Lösung bedeckt war. Die Temperatur dieses Bades wurde durch Tauchsieder auf 37° gehalten. Wir sehen in der völligen Bedeckung der Blase mit körperwarmer Flüssigkeit eine notwendige Voraussetzung zur Erzielung verläßlicher Resultate, da sich bei Abkühlung der Blasenmuskulatur leicht ein Dauerkontraktionszustand ausbildet. Es wurde daher kein Versuch begonnen, bevor das Tier nicht mindestens 1 Stunde in dem Kochsalzbad gewesen war.

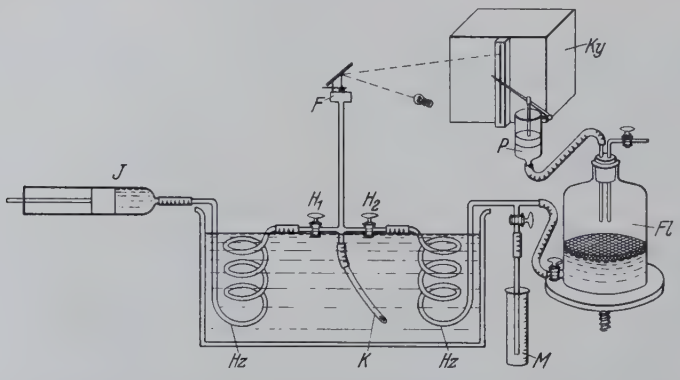


Abb. 1. J = Dauerinfusionsspritze. F = optisches Federmanometer. Ky = optisches Kymographion. K = Harnblasenkatheter. Hz = Heizschlangen. M = Meßzylinder zum Abhebern des Blaseninhaltes. Fl = heb- und senkbare Flasche; Flüssigkeitsspiegel mit Paraffinöl überschichtet. P = Pistonrekorder (s. Text).

Die Versuchsanordnung ist in der Skizze Abb. 1 dargestellt. Mittels der Dauerinfusionsspritze (J) nach Straub läßt sich in die Harnblase ein gewünschtes Flüssigkeitsvolumen langsam einpressen, dessen Temperatur durch eine in das Wasserbad versenkte Heizschlange (Hz) konstant gehalten wird. Ein optisches Federmanometer (F) nach O. Frank (7) gewährleistet nach Absperrung der Glashähne H_1 und H_2 das Registrieren streng isometrischer Kontraktionskurven. Andererseits lassen sich bei offenem Hahn H_2 mit dem Pistonrekorder P mittels Schattenrißprojektion isotonische Kontraktionskurven verzeichnen, wobei der Füllungsdruck durch Heben oder Senken der Flasche Fl auf den gewünschten Wert eingestellt werden kann. Die Isotonie wird durch die im Verhältnis zu den Volumenschwankungen große Oberfläche des mit Paraffinöl überschichteten Flüssigkeitsspiegels in der Flasche gewährleistet. An das System ist seitenständig ein Meßzylinder zum Aushebern der Harnblase und zur Bestimmung ihres Inhaltes angeschlossen. Der arterielle Druck wurde durch ein in der Skizze nicht eingezeichnetes optisches Manometer in der rechten Arteria carotis registriert.

I. Die Ruhedehnungskurve.

Bei steigendem Volumenzuwachs erhöht sich die Spannung der Harnblasenwand und damit auch der Innendruck der Harnblase. Stellt man die Beziehung zwischen Druck und Volumen graphisch dar und trägt

den Druck P als abhängige Variable des Volumens V ein, so erhält man eine Kurve, die wir entsprechend dem Vorgehen von O. Frank (11) am Herzmuskel als „Ruhedehnungskurve der Harnblase" bezeichnen. Die Festlegung dieser Ruhedehnungskurve, die unter streng isometrischen Bedingungen erfolgen muß, wird dadurch erschwert, daß Spontankontraktionen auftreten (s. Abb. 2a), und für die Bestimmung der Ruhedehnung nur die Pausen zwischen den Kontraktionen verwertbar sind. Da der Ruhedruck erst einige Zeit nach Ablauf einer isometrischen Spontankontraktion wieder erreicht wird, haben wir stets den niedersten Druckwert zwischen zwei Kontraktionen für die Aufstellung der Ruhedehnungskurve herangezogen. Bei zunehmender Füllung folgen allerdings die Spontankontraktionen so rasch aufeinander, daß kein Ruhezustand erreicht wird und somit nur die Druckminima während einer längeren Beobachtungszeit als „Ruhewerte" eingesetzt werden können.

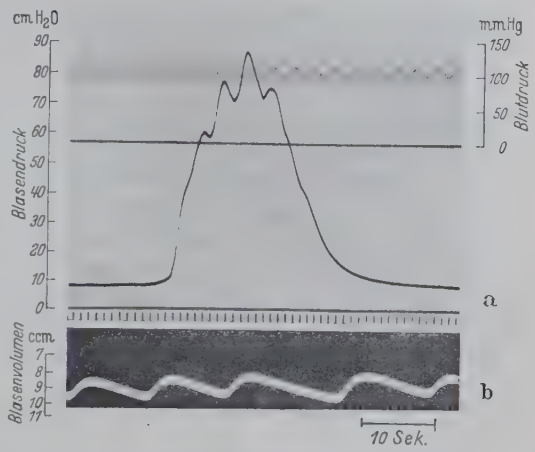


Abb. 2. a) Originalkurve einer isometrischen Spontankontraktion bei 10 ccm Blaseninhalt. b) Isotonische Spontankontraktionen bei dem gleichen Füllungsdruck. Zeitmarken: 1 Sek. Gewicht der Katze 3,5 kg (s. Text).

Als Beispiel einer auf diese Weise ermittelten Ruhedehnung der Harnblase einer weiblichen Katze von 2,8 kg geben wir das Diagramm Abb. 3 wieder. Die ausgezogene Kurve I zeigt den ersten Dehnungsversuch; die unterbrochene Kurve II stellt die kurz darauf wiederholte Dehnung dar. Wir besprechen zunächst die ausgezogene Kurve. Bei langsamer Füllung der Blase von 15 auf

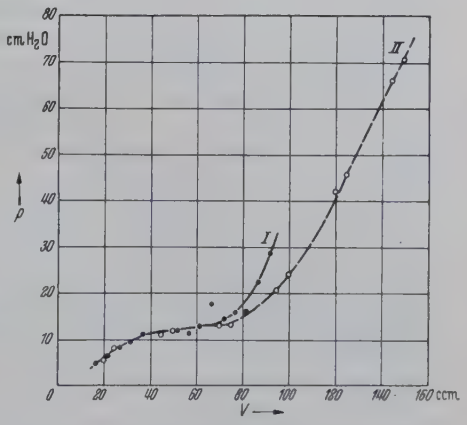


Abb. 3. Ruhedehnungskurven bei wiederholter Füllung der gleichen Harnblase (s. Text).

60 ccm Inhalt steigt der Druck unter ständiger Abnahme des Druckzuwachses von 5,0 auf 12.5 cm H_2O. Im Bereich von etwa 60 ccm bildet die Kurve einen Wendepunkt. Der Druckzuwachs pro Volumeneinheit nimmt nun ständig zu, wobei der Druck bis zu einem Volumen von 90 ccm auf etwa 30 cm H_2O ansteigt. Das bedeutet, daß die Muskulatur der Harnblase in einem bestimmten Füllungsbereich ein Maximum der Dehnbarkeit aufweist.

Die unterbrochene Kurve II in Abb. 3, d. i. der zweite Dehnungsversuch, deckt sich im ersten Teil der Ruhedehnung mit der ausgezogenen Kurve; dagegen ist der Wendepunkt der zweiten Ruhedehnung nach rechts verschoben und die Kurve verläuft mit einem anderen Gradienten, und zwar weniger steil. Dies dürfte auf eine Überdehnung der Blasenmuskulatur während des ersten Dehnungsversuches zurückzuführen sein, da der Gradient des zweiten Teiles der Ruhedehnungskurve Aufschluß über den Spannungszustand der Harnblasenwand gibt; bei steilem Anstieg dürfte die Muskulatur an der Spannung wesentlich mitbeteiligt sein, bei flacherem Anstieg mehr die elastischen Elemente der Blasenwand.

II. Über die pharmakologische Beeinflußbarkeit der Ruhedehnungskurve.

Wir haben nun weiter versucht, den Spannungszustand der Harnblasenwand durch pharmakologische Eingriffe zu beeinflussen. Da nach Angaben des Schrifttums Adrenalin den „Tonus" der Katzenblase verringert, Azetylcholin ihn dagegen erhöht [Henderson und Roepke (5), Mellanby und Pratt (6) u. a.], haben wir bei verschiedener Blasenfüllung Adrenalin und Azetylcholin intravenös in die Vena jugularis oder intraarteriell durch eine Kanüle in der linken Nierenarterie in die Aorta injiziert und die hierbei auftretenden Änderungen des Ruhedruckes gemessen. Mit kleinen Dosen treten Änderungen des Ruhedruckes nicht immer auf. Erst bei Gaben von 100 γ Adrenalin oder 100 γ Azetylcholin ist eine nennenswerte Wirkung zu erzielen.

Tabelle 1.

Änderungen des Ruhedrucks der Harnblase bei verschiedener Blasenfüllung nach Adrenalin bzw. Azetylcholin. Katze, 2,7 kg (Bl. V. 12).

Blasenfüllung ccm	10	30	50	10	30	50
Blasendruck vor Injektion cm H_2O	5,0	4,9	**20,0**	5,0	5,8	**16,5**
Blasendruck nach Injektion cm H_2O	4,5	4,0	**16,5**	5,0	6,8	**24,5**
	Adrenalin i. a. 100 γ			Azetylcholin i. a. 100 γ		

Die Tabelle 1 gibt die Änderungen des Ruhedruckes bei intraarteriellen Gaben von 100 γ Adrenalin und 100 γ Azetylcholin bei einer 2,7 kg schweren Katze mit steigender Blasenfüllung wieder. Aus diesem Beispiel ersieht

man, daß ein deutlicher Effekt nur bei höheren Blasenfüllungen beobachtet werden kann, d. h. daß auch hier im wesentlichen der zweite Teil der Ruhedehnungskurve, in welchem das Optimum der Dehnbarkeit bereits überschritten ist, beeinflußt wird.

Wird die cholinergische Innervation durch Atropin ausgeschaltet, nachdem man die normale Volumen-Druckbeziehung in Form der Ruhedehnungskurve ermittelt hat, so bleibt auch hier die Dehnungskurve der atropinisierten Harnblase gegenüber der Norm bei den niederen Füllungen unverändert, während bei den höheren eine deutliche Spannungsverminderung eintritt; der Wendepunkt wird nach rechts verschoben.

In dem Diagramm der Abb. 4 ist die Ruhedehnungskurve nach i. v. Injektion von 3,5 mg Atropin bei einer 3,1 kg schweren Katze eingezeichnet. In diesem Versuch wurde dann noch unmittelbar nach Tötung der Katze die Harnblase neuerlich gedehnt und die hierbei erhobenen Werte ebenfalls in das Diagramm der Abb. 4 eingetragen. Ein Vergleich der Kurven I, II und III ergibt, daß der „Tonus" der Muskulatur durch die Ausschaltung der cholinergischen Innervation wohl stark abnimmt, aber noch keineswegs soweit herabgesetzt ist, wie nach dem Tode. Die Kurven veranschaulichen sinnfällig den möglichen Bereich der Blasendehnbarkeit von der Norm bis zur völligen Erschlaffung. Der „Blasentonus" ist vor allem durch die Lage des Wendepunktes und dann auch durch den Verlauf des zweiten Teiles der Ruhedehnungskurve gekennzeichnet.

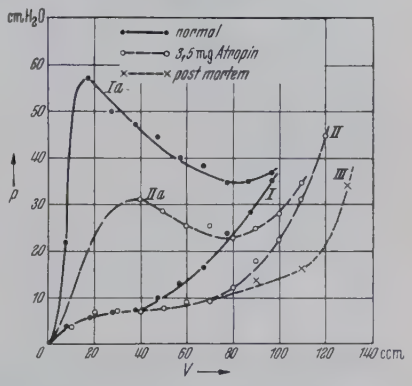


Abb. 4. Ruhedehnungskurven einer Harnblase (I, II, III) und dazugehörige isometrische Druckmaxima (Ia, IIa); normal (I), nach Atropin (II) und nach Tötung des Tieres (III), s. Text.

Eine grundsätzlich gleiche Verschiebung des Wendepunktes der Ruhedehnungskurve wie nach Atropinisierung war zu beobachten, als wir in zwei Versuchen nach Festlegung der normalen Volumen-Druckbeziehung unter Vermeidung einer Überdehnung der Harnblase das Lumbal- und Sakralmark entfernten.

Zu diesem Zweck wurde das Tier aus dem Wasserbad auf einen geheizten Operationstisch gebracht und nach Laminektomie sowie Eröffnung der Dura das Rückenmark durchschnitten und der kaudale Teil nach Durchtrennung sämtlicher Wurzeln herausgenommen. Nach Blutstillung und Vernähung der Wunde wurde das Tier wieder in das Wasserbad zurückgebracht und die Ruhedehnungskurve ermittelt.

III. Die isometrischen Spontankontraktionen.

Wie bereits erwähnt (vgl. S. 467), treten unter streng isometrischen Bedingungen bei der Katzenharnblase rhythmische Spontankontraktionen auf. Die Frequenz, die Druckmaxima, sowie Dauer und Form der einzelnen Kontraktionen sind gesetzmäßig vom jeweiligen Füllungszustand der Harnblase abhängig.

Die Frequenz der Spontankontraktionen nimmt mit steigender Blasenfüllung zu. Hierbei ist eine Beziehung zur Ruhedehnungskurve vorhanden, und zwar findet im ersten Teil der Dehnung nur eine mäßige Frequenzzunahme statt; nach dem Wendepunkt der Ruhedehnungskurve nimmt die Frequenz stärker zu. Allmählich wird ein Zustand erreicht, bei welchem pausenlos isometrische Kontraktionswellen ablaufen. Z. B. ergab die Frequenzmessung bei einer Katze von 2,7 kg bei einer Blasen-

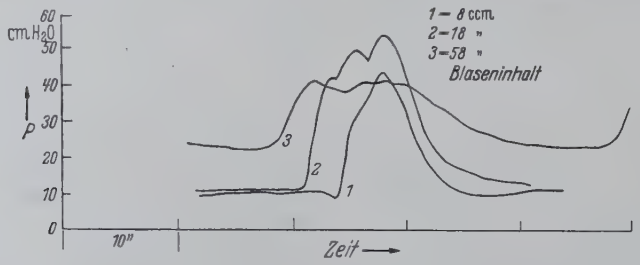


Abb. 5. Übereinander projizierte isometrische Spontankontraktionen bei steigender Blasenfüllung (s. Text).

füllung von 10 ccm etwa 1,5 Kontraktionen pro Minute, bei einer Füllung von 30 ccm etwa 2 pro Minute, hingegen bei 50 ccm Blaseninhalt 6 Kontraktionen in der Minute.

Die Druckmaxima während der einzelnen Spontankontraktionen stehen ebenfalls zur Dehnung der Harnblase in Beziehung. In Abb. 5 haben wir drei Druckkurven bei steigender Blasenfüllung herausgegriffen und so übereinander gezeichnet, daß die Maxima auf der gleichen Ordinate liegen, die Druckkurve 1 war bei einer Füllung von 8 ccm, die Kurve 2 bei einem Blasenvolumen von 18 ccm und die Kurve 3 bei einem Volumen von 58 ccm aufgenommen worden. Vergleicht man die höchsten erreichten Druckwerte der drei Kurven, so ergibt sich, daß bei steigender Blasenfüllung die isometrischen Druckmaxima zunächst zu-, bei höherer Füllung wieder abnehmen.

Im Diagramm der Abb. 4 (S. 469) sind außer den im vorigen Abschnitt besprochenen Dehnungskurven die bei jeder gegebenen Blasenfüllung erreichten Druckmaxima eingezeichnet und durch eine Kurve miteinander verbunden. Die Kurve Ia gibt die isometrischen Druckmaxima bei normaler Dehnung wieder. Sie weist bei 18 ccm Füllung ein Maximum auf,

d. h. schon bei geringem Blaseninhalt werden von dem Hohlmuskel bei spontaner Tätigkeit die höchsten Spannungen entwickelt. Die Form der Kurve der isometrischen Druckmaxima mit ihrem Maximum im Beginn der Blasendehnung verlief in allen unseren Versuchen gleichartig (der höchste an 12 Tieren beobachtete Druck während einer Spontankontraktion betrug 90 cm H_2O), so daß man von einer gesetzmäßigen Beziehung zwischen dem Dehnungszustand der Blasenmuskulatur und dem jeweils erzielten Druckmaximum sprechen kann.

Auch die Dauer der einzelnen isometrischen Spontankontraktionen ist von der jeweiligen Blasenfüllung abhängig; und zwar nimmt die Dauer der Kontraktion mit steigendem Blasenvolumen zu. (Vgl. die Druckkurven der Abb. 5.)

Wie Frequenz, Druckmaximum und Dauer der isometrischen Spontankontraktion von der Dehnung der Harnblasenmuskulatur abhängig sind, so steht auch die Form des Druckablaufes in Beziehung zum Blasenvolumen. Im Beginn der Kontraktionen ist der Druckanstieg um so steiler, je niederer die Anfangsspannung ist. Ebenso verhält sich der Druckabfall der Kontraktionskurven. Als Beispiel verweisen wir auf die isometrischen Druckkurven der Abb. 5. Im Verlauf der Kontraktionen treten mit zunehmender Deutlichkeit Wellen auf, die im Bereich des Kontraktionsgipfels am ausgeprägtesten sind. Ihre Frequenz beträgt durchschnittlich 20 pro Minute (s. Abb. 2a, S. 467 und 5).

IV. Über die pharmakologische Beeinflussung der isometrischen Spontankontraktionen.

Die pharmakologische Beeinflußbarkeit der isometrischen Spontankontraktionen ist ähnlich wie bei der Ruhedehnungskurve am deutlichsten bei mittlerer Blasenfüllung nachzuweisen. Für die Wirkung von Adrenalin oder Azetylcholin spielt auch der Zeitpunkt der intravenösen bzw. intraarteriellen Injektionen eine wesentliche Rolle. Injiziert man z. B. unmittelbar nach Ende einer Spontankontraktion 100 γ Adrenalin, so ist kein Effekt zu beobachten; die folgende Kontraktion ist von einer normalen auch dann nicht zu unterscheiden, wenn die Adrenalinwirkung am Blutdruck noch deutlich erkennbar ist. Wird dagegen Adrenalin unmittelbar nach Beginn einer Kontraktion gegeben, so tritt schon nach 10 γ Adrenalin eine Abschwächung und Formänderung im Sinne einer Verkürzung der Kontraktionsdauer auf.

Nach größeren intravenösen bzw. intraarteriellen Dosen von Adrenalin (30—100 γ) ist die Amplitude der kleinen Wellen verstärkt; sie kann ein solches Ausmaß erreichen, daß eine Einzelkontraktion in zwei oder mehrere Teile zerfällt. In seltenen Fällen kann sich namentlich bei niedriger Blasenfüllung an eine Adrenalininjektion im Beginn der Spontankontraktion eine mehrere Minuten dauernde rhythmische Tätigkeit der Blasenwand anschließen, wobei jedoch nie das Druckmaximum einer normalen Spontankontraktion erreicht wird. So wurde in einem

Versuch bei einer Blasenfüllung von 25 ccm nach 10 γ Adrenalin die normale Kontraktionsdauer von etwa $^1/_2$ Minute durch starkes Hervortreten der kleinen Wellen auf etwa 2 Minuten verlängert.

Im Gegensatz zu Adrenalin ist die Injektion von Azetylcholin während einer Kontraktion unwirksam. Wird dagegen bald nach Ablauf einer Spontankontraktion Azetylcholin gegeben, dann kann hierdurch insbesondere bei mittlerer Füllung eine Kontraktion ausgelöst werden, die meist einen höheren Maximaldruck erreicht als die Spontankontraktionen. Die sonst vorhandenen überlagerten kleinen Wellen können hierbei fehlen. Die Dauer der durch Azetylcholin ausgelösten Kontraktion kann länger sein als die der vorangehenden Spontankontraktion. Auffallend ist, daß zur Auslösung einer Azetylcholinkontraktion hohe Dosen notwendig sind; selbst bei intraarterieller Injektion waren mindestens 100 γ Azetylcholin erforderlich.

Die Spontankontraktionen lassen sich durch Atropin nicht unterdrücken, es nehmen nur die Druckmaxima ab. In Abb. 4, S. 469, Kurve IIa sind die Maximaldrucke bei steigender Blasenfüllung nach Atropin eingetragen, um einen Vergleich mit der Kurve der isometrischen Maxima Ia ohne Atropin zu ermöglichen. Man sieht, daß beide Kurven ähnlich verlaufen und daß auch die Atropinkurve im Beginn der Dehnung ein Maximum aufweist.

Nach Entfernung des Lumbal- und Sakralmarkes finden innerhalb unserer Beobachtungszeit von etwa einer Stunde keine isometrischen Spontankontraktionen mehr statt.

V. Die isotonischen Spontankontraktionen.

Wenn die Blasenmuskulatur unter streng isotonische Bedingungen gesetzt wird, finden ebenfalls Spontankontraktionen statt, die sich jedoch von den isometrischen vor allem dadurch unterscheiden, daß sie wesentlich frequenter aufeinander folgen. In Abb. 2b auf S. 467 haben wir die isotonischen Kontraktionen einer isometrischen Spontankontraktion bei der gleichen Blasenfüllung gegenübergestellt. Es sei noch besonders darauf hingewiesen, daß die im vorigen Abschnitt beschriebenen sog. kleinen Wellen, die den isometrischen Kontraktionsgipfeln aufgesetzt sind, mit der Frequenz der isotonischen Spontankontraktionen nicht übereinstimmen, denn die isotonischen Wellen verlaufen langsamer.

Amplitude und Frequenz der isotonischen Kontraktionen sind vom jeweiligen Füllungszustand der Harnblase abhängig, so betrug z. B. in einem Versuch die durchschnittliche Volumenverschiebung einer Welle bei einer Ausgangsfüllung von 10 ccm 3,1 ccm, bei 30 ccm 3,7 ccm und bei 50 ccm nur 2,2 ccm. Ganz allgemein nimmt, wie auch aus anderen Versuchen hervorgeht, die Amplitude der isotonischen Kontraktionen bei steigender Füllung zunächst zu und sinkt bei höheren Blasenvolumen

wieder ab. Ebenso verhält sich die Frequenz. Sie beträgt bei mittlerer Füllung ungefähr sechs Kontraktionen in der Minute, bei geringer und hoher Füllung steigt sie an.

Von diesen mit jeder Kontraktion verbundenen verhältnismäßig geringfügigen Volumenveränderungen sind die größeren Volumenverschiebungen zu unterscheiden, die sich nach einer Erhöhung oder Erniedrigung des Füllungsdruckes ergeben. Wird z. B. der Füllungsdruck auf einen höheren Wert eingestellt, so nimmt die Blase zunächst ein bestimmtes Flüssigkeitsvolumen auf, von dem aber als Zeichen der Anpassung der Blasenmuskulatur an den neuen Druck ein gewisser Anteil allmählich wieder ausgetrieben wird. Die Größe dieses Anteils (2—12 ccm) ist — wie wir zeigen konnten — abhängig von der Füllung; das wieder ausgetriebene Volumen nimmt bis zu einer mittleren Blasenfüllung von etwa 30 ccm zu, darüber hinaus wieder ab. Wir sehen also, daß die Reaktionsfähigkeit der Blasenmuskulatur auf Füllungsreize im Bereiche mittlerer Füllungen am deutlichsten in Erscheinung tritt.

VI. Die pharmakologische Beeinflussung der isotonischen Kontraktionen.

Die Beeinflussung der isotonischen Tätigkeit der Blasenmuskulatur durch Adrenalin und Azetylcholin haben wir in der gleichen Weise unter-

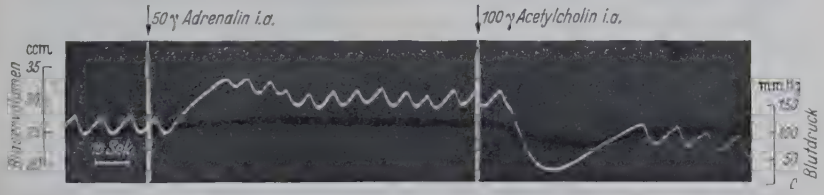


Abb. 6. Beeinflussung isotonischer Spontankontraktionen durch Adrenalin und Azetylcholin (s. Text).

sucht wie bei den isometrischen Kontraktionen. Im Gegensatz zu den Beobachtungen unter isometrischen Verhältnissen spielt der Zeitpunkt der Injektion hier keine Rolle, die Wirkungen sind jederzeit auslösbar.

Abb. 6 zeigt den Einfluß einer intraarteriellen Injektion von 50 γ Adrenalin bei einer Ausgangsfüllung von 28 ccm und einem Füllungsdruck von 8 cm H_2O bei einer Katze von 2,7 kg. Man sieht, daß die Blase einige Sekunden nach der Injektion erschlafft, wobei es im vorliegenden Versuch zu einer Volumenzunahme von 5,8 ccm kam. Die Frequenz der isotonischen Kontraktion nimmt nun auf etwa 10 pro Minute zu, während sie vorher ungefähr 7 pro Minute betrug. Diese Frequenzzunahme war bei allen Adrenalininjektionen nachweisbar. Während der durch Adrenalin bedingten Erschlaffung haben wir bei einer Füllung von 32 ccm 100 γ Azetylcholin intraarteriell verabfolgt, die eine genau entgegengesetzte Wirkung aus-

lösten. Im Maximum der Austreibung wurden 9 ccm gefördert, die Frequenz der Wellen nahm in diesem Falle von 9 auf 5 pro Minute ab.

Setzt man die Maxima der Austreibung bzw. Erschlaffung, die man durch intraarterielle Gaben von Azetylcholin bzw. Adrenalin erhält, in Beziehung zum jeweiligen Ausgangsvolumen, so ergeben sich die Kurven der Abb. 7.

Es läßt sich aus dem Diagramm der Abbildung entnehmen, daß der Effekt einer Injektion von Adrenalin oder Azetylcholin auf die isotonischen Kontraktionen der Harnblase nicht nur von der Dosis, sondern wesentlich auch von der gegebenen Blasenfüllung abhängt. Das Maximum der Austreibung wird bei etwa 30 ccm Blasenfüllung erreicht; bei höherer und niederer Füllung ist die Wirkung geringer. Es zeigt sich demnach, daß unter isotonischen Bedingungen die angewendeten Pharmaka in dem Bereich am stärksten wirken, in welchem auch die Austreibung durch spontane Tätigkeit am ausgeprägtesten ist (vgl. S. 472).

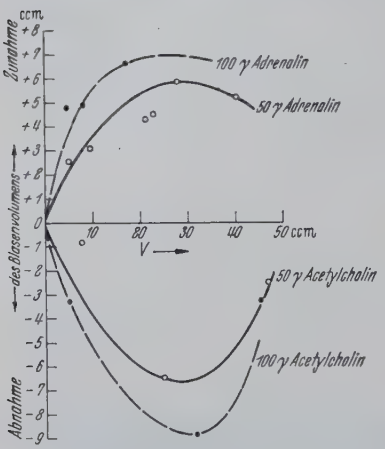


Abb. 7. Abhängigkeit der pharmakologischen Beeinflußbarkeit der Blasenmuskulatur von der Ausgangsfüllung (V) unter isotonischen Bedingungen (s. Text).

Durch Verabreichen von Atropin (1 mg/kg i. v.) werden auch die isotonischen Kontraktionswellen nicht aufgehoben; es tritt nur eine geringfügige Erschlaffung und eine Abnahme der Wellenamplituden ein.

Besprechung der Ergebnisse.

Aus der Beziehung zwischen Druck und Volumen der Harnblase im Ruhezustand ergibt sich die von uns ermittelte Ruhedehnungskurve. Sie zeigt, daß der Elastizitätsmodul der Blasenmuskulatur nicht konstant ist, denn die Dehnbarkeit der Blasenwand nimmt zunächst bei steigender Füllung zu und dann nach einem Bereich maximaler Dehnbarkeit bei weiterer Füllung wieder ab. Einen ähnlichen Verlauf der Dehnungskurven fanden Roy, Herringshaus, Zwardemaker, Mc William und Wezler (8) an ausgeschnittenen Arterien; hier fällt die maximale Dehnbarkeit in den Bereich normaler Blutdruckswerte. Vielleicht liegt auch bei der Harnblase ein funktionell ähnlicher Zusammengang vor, und zwar hinsichtlich des Bereiches der größten Dehnbarkeit und der unter physiologischen Bedingungen ausgenutzten Kapazität. Von der Dehnungskurve des Skeletmuskels [Blix (9), Reichel (10)] und des Herzmuskels [O. Frank (11),

Reichel (12)] weicht die der Harnblase im ersten Abschnitt wesentlich ab; erst der zweite parabolische Kurventeil nach dem Wendepunkt läßt eine gewisse Übereinstimmung der Ruhedehnungskurve erkennen.

Lage des Wendepunktes und Steilheit des Anstieges geben uns die Möglichkeit, den jeweiligen Spannungszustand, d. h. den Tonus der Blasenmuskulatur zu kennzeichnen und somit hemmende oder fördernde Einflüsse (z. B. Adrenalin, Azetylcholin) zu analysieren. Bemerkenswert ist, daß solche Wirkungen nur dann deutlich hervortreten, wenn der Bereich der größten Dehnbarkeit überschritten ist, wenn also die Blasenfüllung offenbar über das physiologische Optimum hinausgeht. Bei Atropin ergibt sich eine erhebliche Verschiebung des Wendepunktes nach rechts, mit anderen Worten, eine beträchtliche Verbreiterung des Bereiches der größten Dehnbarkeit, die in unseren Versuchen nur von dem postmortalen Tonusverlust der Harnblase übertroffen wurde.

Neben den Beobachtungen über das Verhalten der Ruhedehnungskurve ermöglichten unsere Versuche auch eine sorgfältige Analyse der spontanen Kontraktionen unter isometrischen und isotonischen Bedingungen, die bei der üblichen Verwendung von H_2O-Manometern nicht eingehalten werden können. Wie wichtig die Ausschaltung von Volumenverschiebungen bei der Feststellung der isometrischen Kontraktionsverhältnisse ist, ergibt sich u. a. auch aus unserem Befund, daß schon geringe Füllungsänderungen den Kontraktionsablauf und die Ansprechbarkeit gegen Pharmaka ändern. Gleiches gilt für Druckänderungen bei isotonischen Kontraktionen. Wesentlich erscheinen uns die hier aufgedeckten Zusammenhänge zwischen Intensität, Form und Frequenz der Spontankontraktionen in Abhängigkeit von der jeweiligen Blasenfüllung, die auch für das Wirksamwerden der Pharmaka von ausschlaggebender Bedeutung sind. Da die isometrischen Kontraktionen mit zunehmender Blasenfüllung immer häufiger werden, ist anzunehmen, daß den Zentren von der gedehnten Blase frequentere, reflexauslösende Impulse zufließen.

Eine Ausschaltung der cholinergischen Innervation durch Atropin führte nur zur Abschwächung der isometrischen oder isotonischen Kontraktionen; dies stimmt mit den Befunden von Langley und Anderson (1) überein, die die blasenkontrahierende Wirkung einer elektrischen Pelvicusreizung selbst mit hohen Atropindosen nicht unterdrücken konnten.

Ferner konnten wir zeigen, daß während der isometrischen Spontankontraktionen regelmäßig kleinere Kontraktionswellen auftreten, die den großen Spontankontraktionen aufgesetzt sind. Sokownin, v. Zeissl, Langley und Anderson [Lit. s. Dennig (4)] haben für die Trigonummuskulatur die sympathische Innervation und Boeminghaus (13) die Erregbarkeit durch Adrenalin nachgewiesen. Da die kleinen sekundären Kontraktionen im Gegensatz zu den großen Spontankontraktionen durch Adrenalin angeregt werden, halten wir es für wahrscheinlich, daß sie durch die Tätigkeit der Trigonummuskulatur hervorgerufen werden.

Für das Gefühl des Harndranges wurde von manchen Autoren der Dehnungszustand der Blasenmuskulatur, von anderen die spontanen Kontraktionen verantwortlich gemacht [Lit. s. Dennig (4)]. Wären die isometrischen Kontraktionen der adäquate Reiz für das Gefühl des Harndranges, so könnte allenfalls die Frequenz der Kontraktionen, d. h. ihre raschere Aufeinanderfolge hierfür maßgebend sein, denn die bei den Kontraktionen erreichten absoluten Druckwerte nehmen mit steigender Füllung ab.

Bei Aufstellung der Beziehung der isometrischen Druckmaxima zur Füllung der Harnblase interessiert auch der Vergleich mit den isometrischen Druckverhältnissen am Herzmuskel. Bei den Versuchen von O. Frank (11) am Froschherzen war bei steigender Füllung ein deutliches „Maximum" der Kurve der isometrischen Druckmaxima ausgeprägt. Dieses „Maximum" sah Reichel (12) normalerweise nur bei extrem hohen Füllungen, die weit außerhalb des physiologischen Arbeitsbereiches des Herzmuskels lagen. Bei den Herzen, bei welchem ein „Maximum" schon bei relativ niederen Füllungen vorhanden war, konnte stets ein abnormer Verlauf der Ruhedehnungskurve ermittelt werden. Reichel deutete deshalb das „Frank'sche Maximum" als eine Ermüdungs- oder Nachdehnungserscheinung des Herzmuskels. Bei unseren Dehnungsversuchen an der Harnblase war stets ein deutliches „Maximum" der Kurve der isometrischen Maxima im Beginn der Füllung vorhanden. Da hier das „Maximum" noch vor dem „Optimum" der Dehnbarkeit liegt, d. h. in einem Bereich, in welchem die Harnblase noch wenig gedehnt ist, wie aus der gleichzeitig ermittelten Ruhedehnungskurve hervorgeht, ist nicht anzunehmen, daß bei der Harnblase das „Maximum" eine pathologisch zu wertende Erscheinung darstellt.

Für die Prüfung der Wirkung von Pharmaka erscheint es wichtig, daß unter isotonischen Bedingungen der durch Pharmaka ausgelöste Effekt hinsichtlich des maximal geförderten oder aufgenommenen Volumens, also der Grad der Zusammenziehung oder Erschlaffung, nicht allein von der Dosis abhängig ist, sondern auch wesentlich von der Ausgangsfüllung. Quantitativ verwertbare Ergebnisse erhält man deshalb nur, wenn das jeweilige Austreibungs- oder Erschlaffungsvolumen als Funktion des Ausgangsvolumens dargestellt wird. Auf diese Weise läßt sich die in situ belassene Harnblase zur Auswertung pharmakologischer Substanzen heranziehen.

Zusammenfassung.

1. Es wird eine Versuchsanordnung angegeben, die gestattet, unter möglichst physiologischen Bedingungen streng isometrische und isotonische Kontraktionen der Harnblase zu registrieren.

2. Die „Ruhedehnungskurve" der Harnblase wird ermittelt und ihre Änderung bei mechanischen und pharmakologischen Eingriffen festgestellt.

3. Die isometrischen und isotonischen Spontankontraktionen werden in ihrer Abhängigkeit vom Dehnungszustand der Harnblase untersucht.

4. Die Wirkung von Pharmaka ist weitgehend vom Dehnungszustand der Harnblase abhängig. Bei quantitativen pharmakologischen Auswertungen ist daher auf die Ausgangsfüllung der Blase und auf die Einhaltung isotonischer Bedingungen zu achten.

Literatur.

1) Langley, J. N., u. H. K. Anderson: J. Physiol. (Brit.) **16**, 410 (1894); **17**, 177 (1894/95); **18**, 71 (1895); **19**, 372 (1895/96). — 2) Elliot, F. R.: Ebenda **32**, 424 (1905); **35**, 396 (1907). — 3) Stewart: Amer. J. Physiol. **2**, 182 (1899); **3**, 1 (1899). — 4) Dennig, H.: Die Innervation der Harnblase, Berlin 1926, H. 45 d. Monogr. a. d. Gesamtgeb. d. Neurol. u. Psychiatr. — 5) Henderson, W. E., u. M. H. Roepke: J. Pharmacol. (Am.) **51**, 130 (1934); **54**, 408 (1935). — 6) Mellanby, J., u. C. L. G. Pratt: Proc. roy. Soc. London **128**, 186 (1940). — 7) Frank, O.: Z. Biol. **82**, 49 (1925). — 8) Wezler, K., u. A. Böger: Erg. Physiol. usw. **41**, 292 (1939). — 9) Blix: Skand. Arch. Physiol. **3**, 295 (1892); **5**, 173 (1894). — 10) Reichel, H.: Z. Biol. **97**, 429 (1936). — 11) Frank, O.: Ebenda **32**, 370 (1895); Sitzber. Ges. Morph. u. Physiol., München 1897. — 12) Reichel, H.: Z. Biol. **99**, 63 (1938). — 13) Boemighaus, H.: Z. exper. Med. **33**, 378 (1923).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster.

Über Isolobinin, ein Hauptalkaloid der Lobeliadroge.

Von

L. Lendle und H. Ruppert.

(Eingegangen am 6. März 1942.)

Aus der Lobelia inflata sind von Heinrich Wieland[1] und seinen Mitarbeitern in systematischen chemischen Untersuchungen eine große Anzahl untereinander verwandter Alkaloidstoffe dargestellt worden. Von diesen hat das Lobelin, welches eine anregende Wirkung auf das Atemzentrum besitzt und im Anschluß an die pharmakologische Prüfung durch Hermann Wieland[2] als Analepticum in die Therapie eingeführt wurde, das größte Interesse gefunden. Alle anderen Alkaloidstoffe wurden seitdem als „Nebenalkaloide" betrachtet, auch das Lobelanin und das Lobelanidin, die von Clementi[3] u. a. für die Brechwirksamkeit der Drogenextrakte verantwortlich gemacht werden.

Experimentell ungeklärt blieb zunächst die in der älteren Medizin oft verwendete heilsame Wirkung der Droge bei asthmatischen Zuständen. Eine echte spasmolytische Wirksamkeit konnte für keines der bekannten Nebenalkaloide nachgewiesen werden, auch das Lobelin besitzt nicht, wie gelegentlich behauptet worden war, eine vaguslähmende Wirkung an der glatten Muskulatur des Bronchus. Überdies ist Lobelin peroral verabreicht völlig unwirksam.

Neuerdings hat sich Richter[4,5] in unserem Institut mit der Frage der Asthmawirksamkeit der Lobelia beschäftigt. Er konnte bei diesen Untersuchungen eine Anzahl neuer Nebenalkaloide der Lobelia prüfen, die von der Firma Boehringer auf unsere Bitte in freundlicher Weise zur Verfügung gestellt wurden. Er fand darunter einen Stoff, der durch besondere qualitative und quantitative Wirkungsbedingungen ausgezeichnet ist. Die Substanz ist in seinen Veröffentlichungen noch unter der Bezeichnung B_1 beschrieben worden. Es handelt sich dabei um ein von Thomä[6] zuerst dargestelltes Alkaloidpräparat „Isolobinin", welches in die Gruppe der Lobininalkaloide von H. Wieland[7] gehört und eine dem Lobinin selbst isomere Verbindung ist.

Während das Lobelin und seine Verwandten sich von dem Diphenyläthylpiperidin ableiten, ist diese Lobiningruppe bei ähnlichen Seitenketten besonders

[1] Wieland, Heinr.: Ber. dtsch. chem. Ges. **54**, 1784 (1921). — [2] Wieland, Hermann, u. Mayer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **92**, 195 (1922). — [3] Clementi, A.: Boll. Soc. Biol. sper. **8**, 1132 (1933) (zit. Ber. Phys. **76**, 767); Naunyn-Schmiedebergs Arch. **181**, 265 (1936). — [4] Richter, R.: Ebenda **190**, 280 (1938). — [5] Richter, R.: Ebenda **193**, 117 (1939). — [6] Thomä: Liebigs Ann. **540**, 99 (1939). — [7] Wieland, Heinr. u. Mitarbeiter: Ebenda, S. 103.

dadurch gekennzeichnet, daß sich im heterocyclischen Ring eine Doppelbindung befindet. Eine Betrachtung dieser Ringstruktur zeigt, daß das Lobinin das gleiche Tetrahydropyridinskelet besitzt wie das Arecolin, dem freilich die für die Lobelia-alkaloide typischen Seitenketten fehlen. Diese Verwandtschaft im Aufbau wurde Anlaß, auch das Arecolin neben dem Nikotin zur vergleichenden Wirkungsprüfung heranzuziehen. Das Isolobinin soll sich nach Thomä[6] vom Lobinin nur durch eine andere Lage der Doppelbindung unterscheiden. Leider konnte weder Herr Geheimrat Wieland noch die Firma Boehringer uns noch Proben des Lobinins zur Verfügung stellen, um seine Wirkung in Parallele zu dem Isolobinin zu prüfen.

Das Isolobinin ist nach der qualitativen und quantitativ durchgeführten Analyse von Richter[4,5] wohl der einzige Wirkstoff der Lobelia-Droge, der bei der peroralen Verabreichung eine Wirkung auszuüben vermag, und der die perorale Wirkungsweise der Lobelia-Tinktur auch quantitativ vollkommen erklärt, während nach der Feststellung von Richter die sogenannten brechwirksamen Nebenalkaloide Lobelanin und Lobelanidin bei peroraler Zufuhr in praktisch üblichen Dosen unwirksam bleiben. Die Brechwirksamkeit der Lobelia wird peripher von der Schleimhaut aus ausgelöst. Die beiden Alkaloidstoffe vermögen aber nur bei parenteraler Injektion das Brechzentrum direkt zu reizen.

Das Isolobinin besitzt neben seiner vom Magen aus brecherregenden Wirkung bei parenteraler Zufuhr wichtige Wirkungsmöglichkeiten, die zum Teil weit von der Wirkung des Lobelins und anderer Nebenalkaloide abweichen. Es verhält sich außerordentlich nikotinähnlich, während das Lobelin nur eine gewisse Annäherung an die Nikotinwirkung erkennen läßt. Auch diese Feststellung weist auf die Tatsache hin, daß das Isolobinin der Hauptwirkstoff der nikotinähnlich wirkenden Droge ist. Die Nikotinähnlichkeit des Isolobinins ist so groß, daß dieses Alkaloid am Kreislauf und an der Darmmuskulatur sogar tachyphylaxieartige Erscheinungen wie das Nikotin auslöst und in dieser Beziehung zu dem Nikotin eine Wechselwirkung zeigt. Ferner wurden ähnlich wie mit Nikotin, aber schon in kleineren Gaben, Krampfwirkungen an der Ratte erzielt, die bei Wiederholung in kurzen Zeitabständen nicht mehr ausgelöst werden konnten. Es wurden also mit beiden Alkaloidstoffen Tachyphylaxiereaktionen am Zentralnervensystem beobachtet. Auf diese besondere Frage soll in der nachfolgenden Untersuchung von Ruppert[8] eingegangen werden.

Aus dem von Richter[5] beschriebenen Wirkungsbild des Isolobinins soll noch einiges Kennzeichnende genannt werden. Intravenöse Gaben von 10 γ/kg des Stoffes wirken auch an nebennierenfreien Tieren etwa gleich stark blutdruckerhöhend wie 10 γ Suprarenin. Diese Wirkung ist tachyphylaktisch und beruht wie die ähnliche Wirkung des Nikotins auf einer Erregung der sympathischen Ganglienzellen. Dieser Angriffspunkt konnte auch am Verhalten der Nickhaut und der Pupillenweite, sowie bei der Durchströmung des Ganglion cervicale superius nachgewiesen werden. Das gleiche nikotinartige Verhalten konnte auch an der glatten Muskulatur des Darmes beschrieben werden. Auch hier bestand Tachyphylaxie. Am Zentralnervensystem bewirkte Isolobinin starke Erregungserscheinungen. Es kam nach Injektion tödlicher Dosen zu Krämpfen und Atemstillstand mit Erstickung.

Man kann nach diesen Erfahrungen das Isolobinin wohl ebenso wie das Nikotin in die Gruppe der sogenannten „ganglionären" Gifte

[8] Ruppert: Erscheint in diesem Archiv.

(Dixon[9]) einreihen, welche nach neueren Untersuchungen von Anitschkow[10] alle auch auf die adrenalinliefernden Nebennierenzellen und die Chemorezeptoren des Carotissinus in kleinen Konzentrationen erregende und in großen Dosen lähmende Eigenschaften entfalten.

Unter diese nikotinartig wirksamen Stoffe sind z. B. zu rechnen Coniin, Cytisin, Anabasin, Lobelin, Spartein und Tetramethylammoniumjodid (Anitschkow). Ähnliche Wirkungen zeigen auch das Apocodein (Krayer[11], Kusnetzow[12]) und das Hordenin (Raymond-Hamet[13]). Diese Stoffe bieten weitgehende Ähnlichkeit der Wirkungsbedingungen mit dem Isolobinin und dem Nikotin auch am Zentralnervensystem, an dem sie Erregungen bis zu Krämpfen und einen Atemstillstand auslösen können. Sehr deutlich ist z. B. dieses Verhalten aus einer neuen Beschreibung der Pharmakologie des Cytisins von Zachowski[14] zu erkennen. Von allen erwähnten Verbindungen dürfte das Isolobinin am stärksten wirken und sich der Nikotinwirkung am meisten anschließen, dies gilt, wie später noch zu beweisen ist, auch im Hinblick auf die curarinartige Wirkung solcher ganglionärer Gifte am Nervmuskelapparat.

Die chemische Struktur dieser sogenannten ganglionären Gifte ist durchaus nicht einheitlich. Es sind zum Teil Stickstoffbasen, die den Stickstoff in einem heterocyclischen Ringkörper enthalten, meist in einem Pyridin- oder Piperidinring. Zum Teil sind es aber auch Stickstoffbasen von aliphatischem Charakter. Eine allen Stoffen gemeinsame spezifische Struktur liegt offensichtlich nicht vor. Die größte Verwandtschaft untereinander zeigen noch die Pyridinderivate (Nikotin, Lobelin, Isolobinin, Coniin, Anabasin).

Die Wirkungsbedingungen des Isolobinins als eines besonders wirksamen Vertreters dieser Gruppe sollten noch nach verschiedenen Richtungen weiter geprüft* werden unter Vergleichung mit der Wirkung von Nikotin und Arecolin, welches einen dem Isolobinin entsprechenden heterocyclischen Ring besitzt. Bei dieser Prüfung wurde eine besondere Aufgabe darin gesehen, die eigenartigen Vergiftungserscheinungen von Isolobinin und Nikotin bei der Ratte zu analysieren, weil daraus vielleicht Aufschlüsse über die Art der Atmungslähmung durch solche Gifte zu erwarten waren.

I. Wirkung von Isolobinin und Nikotin an der Ratte.

A. Vergiftungsbild.

Nach subcutaner Injektion toxischer Dosen der beiden Stoffe folgt schon innerhalb von 1—2 Minuten ein heftiger Erregungszustand bis zu Krämpfen tonisch-klonischer Natur. Die Tiere beginnen zunächst unruhig zu werden, atmen sehr schnell, laufen ataktisch und schleppen schließlich die beiden Hinterbeine schlaff nach. Dann bleiben sie in spastischer

[9] Dixon: Heffters Handb. exper. Pharm., Bd. **2**, 2, S. 719. — [10] Anitschkow: Arch. internat. Pharmacodynam. **55**, 61 (1937). — [11] Krayer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **111**, 60 (1926). — [12] Kusnetzow: Ebenda **144**, 240 (1929). — [13] Hamet, Raymond: Ebenda **158**, 186 (1930). — [14] Zachowski: Ebenda **189**, 327 (1938).

* Der Fa. C. H. Boehringer Sohn, Nieder-Ingelheim, danken wir für die freundliche Überlassung des hier verwendeten Isolobinin-Präparates.

Haltung etwas stelzig sitzen. Es besteht dabei eine hochgradige Dyspnoe. Schließlich bleibt die Atmung ganz weg, die Tiere werden cyanotisch und schlapp, bei Berühren zeigen sie eine Reflexsteigerung und atmen wieder vielleicht einige Züge. Dann springen sie oft mit heftigen Zuckungen auf und fallen in tonisch-klonische Krämpfe. An dem Vergiftungsbild erscheint es bemerkenswert, daß die Apnoe bei erhaltenen Schmerz- und Körperstellreflexen auftritt, also anscheinend keinen Lähmungscharakter trägt. Nach den Krämpfen, die sich mehrfach wiederholen können, bleiben die vergifteten Ratten cyanotisch in Seitenlage liegen und kommen zum Tode, wenn sie nicht künstlich beatmet werden. Es genügen oft nur wenige Kompressionen des Thorax, dann setzt die spontane Atmung sehr beschleunigt wieder ein, und die Tiere sitzen sofort in aufrechter Haltung, noch etwas spastisch. Bei unterletaler Dosierung tritt nach vorübergehendem Atemstillstand, eventuell auch ohne Krämpfe, die Erholung in wenigen Minuten ein. Lähmungserscheinungen bleiben dabei völlig aus.

Das schon von Richter[4] beschriebene Vergiftungsbild ist bei Nikotin fast das gleiche wie bei Isolobinin. Bei nikotinvergifteten Tieren entwickelt sich nur leichter das Stadium der Seitenlage. Ferner verläuft die Erholung nach Nikotin nicht ganz so schnell.

Von besonderer Bedeutung ist die Tatsache, daß bei wiederholter Injektion der gleichen Dosis nach dem Abklingen der ersten Vergiftung, etwa nach 30—60 Minuten, keine gleiche Vergiftung mehr ausgelöst werden kann. Es bleiben die Atmungserregung, -sperrung, Cyanose, Krämpfe usw. vollkommen aus. Nur eine spastische Haltung mit Steigerung der Reflexe zeigt sich noch. Diese „Tachyphylaxie" am Zentralnervensystem wurde schon von Richter[4] beschrieben, und wird in der folgenden Arbeit von Ruppert weiter analysiert.

Das beschriebene Vergiftungsbild mit seiner gleichzeitigen Krampferregung und Atmungshemmung verdient eine weitergehende Betrachtung, da die zentralnervöse Wirkung des Nikotins und insbesondere seine atmungslähmende Wirkung nicht genügend geklärt ist. Auch am Menschen soll nach klinischen Beobachtungen (Kobro[15]) von nikotinvergifteten Personen die Todesursache immer eine Atmungslähmung in der Folge von schweren Krämpfen und Dyspnoe sein. Nach Langley und Dixon besitzt Nikotin eine erregende Wirkung auf motorische Nervenzellen im Rückenmark (vgl. Heffters Handbuch f. exper. Pharmakologie II, 2, S. 665). A. Rizzolo[16] konnte von der motorischen Hirnrinde nach Auftupfen von Nikotinlösungen epileptiforme Krämpfe erzeugen. Andererseits hat neuerdings Novikowa[17] am rückenmarkdurchtrennten Hund nach Nikotin erst eine Reflexsteigerung und anschließende Lähmung in höherer Dosierung beobachtet. Er konnte auch den Ausfall von bedingten Reflexen feststellen, was im Sinne einer lähmenden Wirkung auf die Großhirnrinde zu deuten wäre. Dolorenzi[18] beobachtete an Kaninchen, die mehrere Wochen lang fast täglich mit toxischen Nikotindosen be-

[15] Kobro: Z. Klin. Med. **133**, 735 (1938). — [16] Rizzolo: Arch. Farmac. sper. **59**, 16 (1929). — [17] Novikova: cit. nach Ber. Physiol. usw. **123**, 378 (1940). — [18] Dolorenzi: Boll. Soc. ital. Biol. sper. **6**, 840 (1931).

handelt worden waren, keine histologischen Veränderungen am Zentralnervensystem und an den vegetativen Ganglien.

Die toxische Nikotinwirkung auf die Atmung ist in verschiedener Weise erklärt worden. Früher ist der Atemstillstand meist auf eine Lähmung des Atmungszentrums zurückgeführt worden (Winterberg[19]). In neuerer Zeit ist dagegen von Thomas und Franke[20] an isolierten Zwerchfellstückchen mit erhaltener Phrenikusinnervation der Nachweis erbracht worden, daß bei nikotinvergifteten Katzen und Hunden eine curarinartige Lähmung der Atmungsmuksulatur vor dem Ausfall der zentralen Atmungsrhythmik erfolgt. Gold und Brown[21] konnten den Anteil der peripheren Lähmung als Todesursache bei der Nikotinvergiftung bestätigen. Sie beobachteten aber gleichzeitig eine erregende und lähmende Wirkung am Atmungszentrum. Sie betrachteten die Apnoe als durch einen Krampf der Atmungsmuksulatur bei erhaltener Erregbarkeit des Atmungszentrums bedingt. Dieser Zustand konnte durch Vorbehandlung mit Barbitalen verhütet werden, nicht aber der tödliche Atmungsstillstand durch die periphere Lähmung der Atmungsmuksulatur. Dieser Auffassung schließt sich auch Kobro[15] an. Ferner hat Dixon in Heffters Handb. f. exper. Pharmakol. II, 2, S. 666 auch schon auf den spastischen Charakter des Atemstillstandes im Rahmen der Krampferregung hingewiesen, er nahm allerdings eine daran anschließende Lähmung des Zentrums als Todesursache an.

Es mag sein, daß die toxische Nikotinwirkung auf die Atmung nicht einfacher Natur ist, und daß je nach der Dosierung auch die verschiedenen Möglichkeiten der Einwirkung zur Geltung kommen. In unseren Versuchen an Ratten beobachteten wir nach Injektion der gerade tödlichen Krampfdosen und nach größeren Gaben immer nur Erscheinungen, die im Sinne einer „spastischen Apnoe" aufzufassen sind. Schoen und Hempel[22] haben unter diesem Begriff aktive Sperrungen der Atmung in inspiratorischer Haltung beschrieben, welche auf eine Erregung des Atmungszentrums zurückzuführen sind. Derartige Zustände konnten an Kaninchen nach intravenöser Zufuhr verschiedener Pharmaka beschrieben werden, darunter auch Nikotin, Lobelin u. a.

Auch Wieland und Mayer[2] beobachteten bei ihrer Analyse der Lobelinwirkung auf die Atmung einen der Erregung vorausgehenden flüchtigen Stillstand. Diese Hemmung trat auch an den betäubten Versuchstieren auf und soll bei Atropinvorbehandlung sowie nach Vagotomie zum Teil ausgeblieben sein. Er wird von ihnen als durch eine Vagusreizung (Bronchospasmus) bedingt angesehen.

In unseren Versuchen gelang es, durch Vorbehandlung der Ratten mit kleinen Avertindosen, die gerade eine Seitenlage auslösen, oder mit Äther in kleinen und großen Dosierungen die Atmungsstillstände nach Nikotin oder Isolobinin vollständig zu verhüten, ebenso wie die Krampfzustände. Aus diesen Beobachtungen, auf die später noch eingegangen werden soll, kann also mit Bestimmtheit abgeleitet werden, daß dieser Atmungsstillstand keinen Lähmungscharakter trägt, sondern ein Teilvorgang der zentralen Erregung ist, also eine aktive Atmungssperrung.

[19] Winterberg: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **43**, 400 (1899). — [20] Thomas u. Franke: J. Pharmacol. (Am.) **34**, 111 (1928). — [21] Gold u. Brown: Ebenda **54**, 463 (1935). — [22] Schoen u. Hempel: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **171**, 403 (1933).

B. Quantitative Wirkungsbedingungen.

Die Wirksamkeit von Isolobinin und Nikotin wurde bei subcutaner Injektion an einem großen Tiermaterial ermittelt, weil die Frage der antagonistischen Wirkung anderer Pharmaka und die Frage der Tachyphylaxie gesondert geprüft werden sollte. Die zahlenmäßigen Unterlagen für die Festlegung der Grenzwerte sind in der folgenden Arbeit von Ruppert aufgenommen. Es wurde danach als sicher atmungshemmende Krampfdosis von Isolobinin 0,3—0,4 mg/kg und von Nikotin 2,4—3,0 mg/kg angenommen. Danach wäre also das Isolobinin noch achtmal stärker wirksam als das Nikotin.

Im Vergleich dazu ist die Wirkung des Lobelins gering. Joel[23] hat an Mäusen bei subcutaner Injektion mit 0,05 mg/g Krämpfe und mit 0,1 mg/g tödliche Wirkungen erzielt. Danach würden also erst 50—100 mg pro kg in ihrer Wirkung der obengenannten Isolobinindosis entsprechen. Reinartz[24] fand sogar erst mit 100—150 mg/kg Lobelin an der Maus eine tödliche Krampfwirkung.

Das Isolobinin ist eine labile Verbindung, die beim Stehen in Lösungen an Wirksamkeit verliert, worauf Richter[4] schon hingewiesen hat. Bei quantitativer Auswertung konnten wir für eine wässerige Lösung 1/100, die 4 Wochen bei Zimmertemperatur im Hellen gestanden hatte, eine Wirkungsabnahme auf $^1/_2$ bis $^1/_3$ feststellen; die tödliche Dosis betrug 1,0 mg/kg.

Auch bei peroraler Zufuhr des Isolobinins wird seine Wirksamkeit erheblich abgeschwächt, wie es schon Richter angab. Wir erreichten mit Gaben bis 4 mg/kg, also mit der zehnfachen Dosis, die subcutan letal wirkte, keine Vergiftungserscheinungen. Wenn das Isolobinin bei der oralen Zufuhr mit der Sonde aber nicht bis tief in den Magen injiziert wurde, sondern schon in der Speiseröhre zur Aufnahme gelangen konnte, dann wirkten schon 1,0 mg/kg, also die zwei- bis dreifache Grenzdosis, krampferzeugend. Diese Beobachtung spricht dafür, daß das Isolobinin entweder im Magen schnell zerstört wird oder bei der Passage der Leber zurückgehalten und abgebaut wird. Für die letzte Auffassung kann ein Beweis in der weiteren Beobachtung gesehen werden, daß das Isolobinin auch bei intraperitonealer Zufuhr, wo die Resorptionsbedingungen doch noch viel günstiger liegen, wo aber das resorbierte Gift auch vorwiegend durch die Leber strömen muß, weniger wirksam ist als bei der subcutanen Verabreichung. 0,5 mg Isolobinin/kg lösten bei intraperitonealer Zufuhr nur geringe Vergiftungserscheinungen aus.

Es ist von Interesse, das Verhalten des Nikotins damit zu vergleichen. Heubner und Papierkowski[25] haben an der Maus die mittlere letale Dosis bei subcutaner Zufuhr mit 16 mg und bei peroraler Zufuhr mit

[23] Joel: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **132**, 63 (1928). — [24] Reinartz: Ebenda **163**, 279 (1931). — [25] Heubner u. Papierkowski: Ebenda **188**, 605 (1938).

24 mg/kg bestimmt. Die Wirkung war bei der peroralen Verabreichung also nur um 50 % abgeschwächt. Wir haben bei Ratten auch die Wirksamkeit des Nikotins bei intraperitonealer Injektion ermittelt und dabei der subcutanen Zufuhr gegenüber keine Abschwächung gefunden wie beim Isolobinin. Daraus läßt sich ableiten, daß das Isolobinin anscheinend sehr viel stärker als das Nikotin in der Leber entgiftet wird und sich in dieser Beziehung dem Lobelin und den anderen Restalkaloiden der Lobelia ähnlicher verhält, deren wirksame Seitenketten im Organismus schnell zerstört werden können.

C. Deutungsversuch über eine Wirkung am Carotissinus.

Im Vergiftungsbild erschienen Krampferregung und Atmungssperrung als gekoppelte Reaktionen. Es war möglich, die Atmungshemmung als Teil einer allgemeinen Erregung im Hirnstammgebiet aufzufassen. Andererseits lag es aber auch nicht ganz ferne, die Atmungserregung und -hemmung als Folge einer Wirkung auf den Carotissinus zu betrachten. Dann wäre es auch nicht unmöglich, daß die Krampfwirkung als Erstickungsfolge bei der totalen Apnoe auftritt. Jedenfalls waren die Krämpfe immer erst in einem Stadium aufgetreten, wo eine schwere Cyanose den hochgradigen Sauerstoffmangel anzeigte. Bei dieser letzten Auffassung wäre es auch leicht verständlich, daß das ganze Vergiftungsbild durch eine tachyphylaktische Reaktion gekennzeichnet ist, die sonst für Krampfwirkungen ganz unbekannt ist.

Für diese Auffassung sprach auch eine weitere Angabe in der Literatur. Dale und Laidlaw [26] haben für das Cytisin ein ähnliches Verhalten beschrieben. Cytisin erregt an betäubten Katzen in kleinen Dosen die Atmung und lähmt sie in großen. Wenn diese Tiere beatmet werden, läßt sich der Atmungsstillstand schnell aufheben. Die gleichzeitig beobachteten Krampfwirkungen wurden dabei als Folge der Erstickung betrachtet.

Nikotin erregt die Atmung über die Chemorezeptoren des Carotissinus (C. Heymans [27], Gollwitzer-Meyer [28] u. a.). Große Dosen solcher ganglionärer Gifte lähmen die Chemorezeptoren (Anitschkow [10]). Auch das Isolobinin gehört wie das Nikotin zu den ganglionären Giften. Es konnte danach folgende in der Deutung weiter führende Hypothese zur Prüfung gestellt werden:

Die beiden Stoffe erregen über die Chemorezeptoren die Atmung im Anfangsstadium so sehr, daß infolge der Tachypnoe die CO_2 abgeatmet wird. In der folgenden Phase geht die Erregung des Carotissinus in eine Lähmung über. Infolgedessen bleibt der Atmungsreiz aus. Auch die direkte Erregung des Atmungszentrums durch CO_2 fehlt jetzt. Wenn bei stillstehender Atmung nun allmählich ein Absinken des O_2-Gehalts im Blut erfolgt, so kann, da die auf O_2-Mangel ansprechenden Chemorezeptoren gelähmt sind, von dort aus nicht direkt oder über die übliche Sensibilisierung des Atmungszentrums für CO_2 ein Atmungsreiz gesetzt werden. Der O_2-Gehalt im Blut wird so lange sinken, bis wieder eine genügende CO_2-Schwelle

[26] Dale u. Laidlow: J. Pharmacol. (Am.) **3**, 205 (1912). — [27] Heymans: Arch. internat. Pharmacodynam. **41**, 261 (1931). — [28] Gollwitzer-Meyer: Pflügers Arch. **234**, 342 (1934).

im Blut für die Erregung des Atmungszentrums erreicht ist. Im Verlauf dieser starken Anoxämie können Erstickungskrämpfe auftreten. Wenn aber einige künstliche Atmungszüge durchgeführt werden, ist wieder genug O_2 und CO_2 im Blut enthalten, so daß die spontane Atmung trotz weiterbestehender Lähmung des Carotissinus erhalten bleibt.

Wenn dieser Mechanismus dem beschriebenen Vergiftungsbild zugrunde liegen sollte, dann wäre es verständlich, daß bei erneuter Injektion von Isolobinin oder Nikotin jede neue Wirkung ausbleibt. Der ganglionäre Apparat ist gelähmt, eine Hyperventilation als erstes Glied in der Kette der zum Erstickungstode führenden Reaktionen tritt nicht mehr auf. Es war natürlich möglich, die Frage nach der Richtigkeit dieser Hypothese experimentell zu prüfen. Die Ergebnisse dieser Untersuchung brachten keine Bestätigung.

Die erste Frage, die gestellt werden konnte, war die, ob Krämpfe und Atmungssperrung nach Isolobinin auch auftreten, wenn der Carotissinus der Versuchstiere vorher operativ ausgeschaltet wird. An einigen Versuchstieren wurde in Äthernarkose beiderseits die Gabelung der Carotiden freigelegt und ober- und unterhalb des Sinus unterbunden. Außerdem wurde in mehreren Versuchen auch zusätzlich das eigentliche Carotissinusgebiet mit dem Glühdraht verschorft. Bei diesen operativen Eingriffen bildete sich mehrfach ein Stridor aus, der wohl auf einer Verletzung des Recurrens beruht. Es wurde daher bei allen Versuchstieren eine Trachealkanüle eingebunden. In mehreren Kontrollversuchen wurde auch eine Tracheotomie ohne Sinusausschaltung ausgeführt. Nachdem bei den Versuchstieren die Äthernarkose abgeklungen war, wurde das Isolobinin in Dosen von 0,5 mg/kg subcutan injiziert, also in einer sicher krampfbereitenden Gabe. In allen Fällen traten die üblichen Vergiftungserscheinungen auf.

In einer weiteren Versuchsreihe wurden Ratten mit sogenannten „ganglionären Giften" vorbehandelt, welche den Carotissinus ohne wesentliche Erregungserscheinungen zu lähmen vermögen. Spartein gilt als derartiger Stoff. Raymond-Hamet[29] hat damit z. B. festgestellt, daß nach intravenöser Injektion von 10—30 mg/kg Katze eine Lähmung der Schaltganglien erfolgt, so daß Nikotin an so vorbehandelten Tieren nicht mehr blutdrucksteigernd wirkt. Auch für das Apokodein ist Ähnliches nachgewiesen worden (Dixon[30], Krayer[11], Kusnetzow[12]).

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Die Ratten wurden 20—60 Minuten vorher mit steigenden Dosen von Spartein und Apokodein vorbehandelt. Die Sparteingaben wurden ohne Nebenerscheinungen vertragen. Bei der Behandlung mit Apokodein*

[29] Hamet: C. r. Acad. Sc. Paris **189**, 651 (1929). — [30] Dixon: J. Physiol. (Brit.) **30**, 97 (1903).

* Den Diwag Chemischen Fabriken, Berlin, danken wir für die freundliche Überlassung des Apokodein-Präparates, welches auch von Krayer für seine Versuche verwendet worden war.

Tabelle 1. Vorbehandlung mit Spartein und Apocodein.

Stoff	mg/kg	Isolobinin mg/kg	Erregungswirkung
Apocodein	5	0,4	+
	10	0,4	+
	25	0,4	+ + +
	40	0,4	+ +
	60	0,4	+ +
Spartein	10	1,0	(+) + +
	15	1,0	(+)
	25	1,0	(+)
	30	0,25—1,0	(+) (+) + + + +
	50	0,50—1,0	(+) (+) (+) + + + +

trat in hohen Dosen (40—60 mg/kg) schon eine Erregung bis zu Krämpfen auf. Die Reflexerregbarkeit war dabei stark erhöht und die Atmung oft fliegend. Ferner fiel eine Salivation auf. Das Vergiftungsbild unterschied sich aber dem des Isolobinins gegenüber durch das Fehlen einer Apnoe, das langsamere Eintreten der Krampfwirkung und die viel längere Dauer des Erregungszustandes. Außerdem war bei Reinjektion des Apokodeins keine Tachyphylaxie festzustellen.

Die Nachinjektion des Isolobinins erfolgt in Dosen von 0,4—1,0 mg/kg, war also überschwellig. In der Tabelle ist der Grad der Vergiftung für jedes Tier durch ein besonderes Zeichen +, (+) usw. angegeben worden. Als Befund kann daraus abgelesen werden, daß für diese Vorbehandlung keine Abschwächung der Vergiftung erzielt wird. Diese beiden ganglionären Gifte unterscheiden sich also dem Nikotin gegenüber, welches gegen eine Reinjektion von Isolobinin tachyphylaktisch macht. (Vergleiche die folgende Arbeit von Ruppert.)

Zum Schluß sei noch über Versuche berichtet, welche an die obige Hypothese direkt anschlossen. Es war dabei von der Annahme ausgegangen worden, daß das Vergiftungsbild zustande kommt durch eine erste Hyperventilation mit folgender Lähmung der Chemorezeptoren im Carotissinus. Wenn die Tiere sich nach einigen künstlichen Atemzügen erholt haben, so muß noch die Lähmung des Sinus fortbestehen. Es wäre also als bester Beweis für die Richtigkeit der Hypothese zu fordern, daß bei jeder neuen willkürlichen Hyperventilation, die zum Verlust der CO_2 führt, ein gleichartiges Vergiftungsbild wieder ausgelöst werden kann. Versuche, diese Annahme zu bestätigen, waren jedoch erfolglos. Die Hyperventilation wurde in verschiedener Weise vorgenommen. Teils wurden die Tiere durch schnelle manuelle Thoraxkompressionen, teils mit Hilfe von mechanischen Atmungsvorrichtungen beatmet. Es gelang praktisch in keinem Falle, eine Apnoe auszulösen. Bei der Ausführung der künstlichen Beatmung war immer die Einlegung einer Trachealkanüle erforderlich. Trotzdem war die Beatmung oft nicht ohne Schädigung des Lungengewebes möglich. Viele Tiere verstarben unter Ausbildung eines Lungenödems.

D. Antagonistische Wirkungen.

Im vorausgehenden Abschnitt C ist schon einmal Gebrauch gemacht worden von einer Prüfung antagonistisch wirkender Stoffe, um den Mechanismus der Isolobinin- bzw. Nikotinwirkung zu klären. Die beiden

ganglionär lähmenden Stoffe Apokodein und Spartein vermochten die Erregungszustände nach Isolobinin nicht zu hemmen. Die Verwendung von antagonistischen Wirkungen zur Aufdeckung von Wirkungsangriffspunkten wird seit der entschieden ablehnenden Stellungsnahme von Magnus [31] meist sehr kritisch beurteilt. Neuerdings haben auch Straub und Amann [32] bei Studien über Nikotinwirkungen den „problematischen Wert" solcher Bemühungen betont. Sie halten zumindest das dabei etwa erzielte Ausbleiben von Wirkungen für nicht entscheidend.

Trotz dieser Überlegungen haben wir hier bestimmte antagonistische Wirkungen geprüft. Die Analyse sollte ja nicht allein auf derartige Beobachtungen begründet werden. Sie sollten nur Teilstücke, die wieder durch andere experimentelle Befunde zu ergänzen sind, im Gang der Untersuchungen liefern.

Die ersten Versuche mit Narkotica sind schon oben erwähnt worden. Die Ratten waren zum Teil mit Avertin in leicht oder vollnarkotischen Dosen vorbehandelt worden. Ein Teil der Ratten kam auch unter Äthernarkose zum Versuch. Bei diesen Tieren blieben die Krämpfe und Apnoe völlig aus. Die Atmung wurde kaum verstärkt. In keinem Falle zeigte sich eine „Weckwirkung", wie sie sonst mit zentralerregenden Stoffen unter der Narkose beobachtet werden kann. In diesen Versuchen ist die Aufhebung der Erregungserscheinungen als eine „symptomatische" Wirkung leicht verständlich. Dagegen ist die Verhütung des Atmungsstillstandes durch die Narkose eine wichtige Feststellung. Sie beweist, daß die Hemmung der Atmung nicht auf einer Lähmung des Atmungszentrums beruht, sondern auf einer aktiven Erregung, einem Sperrmechanismus. Es kann sich bei diesem Verhalten der Ratten auch nicht um eine curarinähnliche Lähmung der Atmungsmuskulatur als Todesursache handeln, wie sie oben nach Literaturangaben für die Nikotinwirkung erörtert wurde.

Einige Versuche wurden auch mit Morphinvorbehandlung durchgeführt. Damit wurde selbst in hohen Dosierungen keine Hemmung der Apnoe und der Krämpfe erreicht. Morphin hat praktisch auch keine motorisch lähmenden Eigenschaften. Seine lähmende Wirkung auf das Atmungszentrum verhütete auch nicht die spastische Apnoe. Die Krampfneigung der Tiere wurde sogar eher verstärkt, was einer früheren Beobachtung über eine erhöhte Krampfwirksamkeit von Cardiazol an morphinbehandelten Ratten entspricht (Lendle [33]). Die Atmungsstörungen und die Cyanose waren auch verstärkt, so daß die Tiere nach den höheren Dosen alle in Seitenlage fielen und sich langsamer erholten.

Einige spasmolytisch wirkende Stoffe wurden auf ihr Verhalten gegen Isolobinin geprüft, weil es möglich erschien, daß die Krämpfe vielleicht über spastische Gefäßwirkungen im cerebralen System zustande kommen. Für die Apnoe nach intravenöser Injektion von Adrenalin wird ja auch eine derartige Gefäßreaktion als Ursache betrachtet. Neben dem

[31] Magnus: Pflügers Arch. **123**, 99 (1908). — [32] Straub u. Amann: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194**, 433 (1940). — [33] Lendle: Ebenda **181**, 408 (1936).

Papaverin wurden die lähmenden Gifte des vegetativen Nervensystems, Atropin und Ergotamin, berücksichtigt. Keine dieser Verbindungen vermochte die Apnoe und die Krämpfe nach Isolobinin zu verhüten, wie die Zusammenstellung in Tabelle 2 zeigt.

Tabelle 2. Vorbehandlung mit Spasmolytica.

Stoff	mg/kg	Isolobinin mg/kg	Erregungswirkung
Papaverin	2	1,5	+
	6	1,5	+
	10	1,0	(+)
	12	1,5	+
	20	0,5—1,0	+ + + +
Atropin	1,0	1,0	+ +
	3,0	1,0—1,5	± + +
	10,0	0,5—1,0	(+) (+) + + + + +
Ergotamin	0,2	1,0—2,0	± (+) +
	0,5	1,0—2,0	± (+) + +
	1,0	0,5—2,0	± (+) + + + + +

Nach diesen Feststellungen handelt es sich bei der Isolobininapnoe also auch nicht um eine ähnliche Reaktion, wie sie H. Wieland und Mayer [2] für das Lobelin beschrieben haben. Nach ihren Angaben soll die flüchtige Atmungshemmung vor der folgenden Steigerung auf einem Vagusreiz (Bronchospasmus) beruhen und durch Atropinvorbehandlung oder doppelseitige Vagotomie zu verhüten sein. Wir haben auch an doppelseitig vagotomierten Ratten mit eingebundener Trachealkanüle die Wirksamkeit von Isolobinin geprüft. Die Wirkung wurde dadurch nicht beeinträchtigt.

Eine letzte Versuchsreihe wurde mit adrenalinvorbehandelten Ratten ausgeführt. Die Ratten erhielten Adrenalin und Isolobinin in zeitlichem Abstand von 5—15 Minuten subcutan an zwei verschiedenen Extremitäten. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 zusammengestellt. Es zeigt sich darin,

Tabelle 3.

Adrenalin mg/kg	Zeitintervall	Krampfstoff mg/kg	Erscheinungen
0,01	5—10′	Isolobinin 0,5 subc.	± (+) (+) + +
0,02	5—8′	„ 0,5 „	± (+) (+) (+) +
0,03	5—15′	„ 0,5 „	— — ± ± (+)
0,05	5—15′	„ 0,5 „	— — — — — —
0,05	14′	„ 0,5 „	(+) (+)
0,05	5′	Nikotin 3,0 subc.	± ± ± (+) + +
0,05	5—13′	Nikotin 3,0 i. periton.	+ + + + + + +
0,05	5—10′	Cardiazol 60,0 subc.	± + + + + +

daß mit steigenden Adrenalindosen bis 0,05 mg kg eine Abnahme der Isolobininwirkung bis zur völligen Aufhebung erfolgen kann. Es lag natürlich nahe, daran zu denken, daß diese Abschwächung die Folge einer Resorptionsverzögerung durch Gefäßverengerung ist. Dafür würden auch die Beobachtungen mit Nikotin sprechen, die in der gleichen Tabelle aufgenommen sind. Die gleichartige Nikotinwirkung wurde bei derselben Vorbehandlung weniger abgeschwächt und erlitt bei intraperitonealer Zufuhr des Nikotins, wo die Resorptionsbedingungen besonders gut sind, überhaupt keine Abschwächung. Dieser Unterschied im Verhalten gegenüber dem Isolobinin könnte darauf beruhen, daß das Nikotin weniger labil ist als das Isolobinin und daher weniger bei einer Resorptionshemmung an Wirksamkeit verlieren muß. Gegen diese Auffassung, daß allein eine Resorptionsverzögerung durch Adrenalin die Ursache der Hemmung ist, sprechen aber die weiteren Erfahrungen mit Cardiazol. Die Cardiazol-Krampfwirksamkeit nach subcutanen Injektionen konnte durch die gleiche Adrenalinvorbehandlung nicht gehemmt werden (vgl. die Tabelle).

Bei den Tieren, bei welchen die primäre Isolobininwirkung durch die Adrenalinvorbehandlung verhütet wurde, trat bei wiederholter Injektion von Isolobinin zu einer Zeit, wo die hemmende Adrenalinwirkung schon abgeklungen war, keine Krampfwirkung mehr auf. Das Isolobinin hatte hier also doch eine Tachyphylaxie ausgelöst. Diese Ergebnisse entsprechen den Erfahrungen, die auch bei Unterdrückung der Erstreaktion mittels Narkotica erzielt werden konnten (vgl. S. 487).

II. Vergiftungen bei anderen Warmblütern.

A. Kaninchen.

Das Isolobinin erwies sich an Kaninchen als auffallend wenig wirksam im Vergleich zu den Ratten. Dosen von 0,5—10,0 mg/kg aufsteigend lösten keine Krämpfe und Apnoe aus. Das Vergiftungsbild war nicht einheitlich. Atmungserregung und Reflexsteigerungen traten schon nach den kleinen Dosen auf, Dyspnoe und Cyanose erst mit Dosen oberhalb von 3 mg/kg. In einigen Versuchen wurden auch Schwächen in den Extremitäten beobachtet, so daß die Tiere sich flach auf den Bauch legten; es waren dabei aber keine Lähmungen der Stellreflexe zu erkennen. Mit der höchsten geprüften Dosis von 12 mg/kg wurde eine schwere Dyspnoe mit Cyanose neben Reflexsteigerung ausgelöst. Später lag das Tier schlapp und flach auf dem Bauch und führte nur zappelnde Abwehrbewegungen aus. Dieser Zustand der motorischen Hilflosigkeit ohne volle Lähmung hielt etwa 30—60 Minuten an. Anzeichen einer Atmungshemmung waren nicht festzustellen.

Nikotin wirkt ähnlich. Die wirksamen Grenzdosen liegen aber nicht soweit oberhalb der an Ratten ermittelten Werte wie beim Isolobinin. Mit 3—5—7 mg kg wurden schon deutliche Vergiftungen erzielt. Es zeigte

sich dabei eine deutliche motorische Unruhe, Ataxie, Atmungserregung, tetanische Kopfhaltung, Schlaffheit der Extremitäten, besonders der hinteren, und eine Steigerung der Reflexerregbarkeit. Schließlich legten sich die Tiere, ohne daß eine Lähmung der Stellreflexe besteht, mit abgestreckten Extremitäten flach auf den Bauch. Es kann nun auch eine Dyspnoe mit Cyanose erkennbar werden, aber keine Apnoe wie bei den Ratten. Mit Dosen von 6—8 mg/kg erfolgen sehr schnell nach der intramuskulären Injektion wiederholte (tonisch-)klonische Krämpfe. Bei wiederholten Gaben dieser Krampfdosen im Abstand von 60 Minuten konnte auch eine Tachyphylaxie nachgewiesen werden.

B. Katzen.

Ebenso wie an den Kaninchen war die Isolobininwirkung hier wesentlich geringer als bei Ratten. Es wurden Dosen von 0,3—8 mg/kg zugeführt. Unmittelbar nach der subcutanen oder intramuskulären Injektion tritt Unruhe auf. Die Tiere legen sich nach kurzer Ataxie flach hin. Die Atmung wird anfänglich meist tief und langsam, später schneller und flacher. Die Ohren zucken schnell und werden dann meist fest angepreßt. Krämpfe konnten unter 18 Versuchen nur einmal beobachtet werden, sie waren tonisch-klonischer Natur. Dabei sistierte die Atmung bei starrem Thorax. Nach mittleren Gaben konnte in den Extremitäten bei passiven Bewegungen ein Rigor nachgewiesen werden, die Reflexe waren nicht pathologisch verändert. Nach höheren Dosen (4—8 mg/kg) fielen die Tiere in Seitenlage, es waren dabei aber nur die Stellreflexe, nicht die Schmerzreflexe gelähmt. Diese Seitenlage konnte oft mehrere Stunden unter starker Abkühlung anhalten. Die Beobachtungen über Tachyphylaxie bei wiederholten Gaben finden sich in der folgenden Arbeit.

Die Nikotinvergiftung an der Katze verlief nach intramuskulärer Injektion sehr schnell. Erregung der Atmung, Ataxie und Unruhe. Würgen und Erbrechen, Defäkation, Zucken der Ohren, Mydriasis, gelegentlich spastische Stellungen (Katzenbuckel) folgen schnell aufeinander. Die Tiere werden dann schlaff, sitzen flach oder fallen in Seitenlage. Innerhalb von 2—5 Minuten können klonische, gelegentlich auch tonisch-klonische Krämpfe auftreten, denen sich schnell eine tödliche Atmungslähmung anschließt. Die tödliche Dosis liegt bei 3—4 mg/kg. Es handelt sich aber nicht wie bei den Ratten um eine den Krämpfen vorausgehende Atmungssperrung, die durch künstliche Beatmung schnell behoben werden kann. Die Erholung der Versuchstiere kommt nur langsam zustande.

III. Wirkungsbedingungen am Frosch.

A. Allgemeines Vergiftungsbild.

Richter hatte bei orientierenden Versuchen schon festgestellt, daß Isolobinin bei Esculenten in hohen Dosen (30—100 mg/kg) nikotinartige Wirkungen wie z. B.

eine Pagodenstellung auslösen kann. Die Grenzdosierung für Isolobinin war nicht festgelegt worden, so daß auch Vergleichsmöglichkeiten mit den Verhältnissen am Warmblüter noch nicht gegeben waren.

Bei Versuchen an 55 Fröschen (Rana temporaria) ließen sich folgende Grenzwerte für die Wirksamkeit festlegen:

Wirkungen	Nikotin	Isolobinin
Rückenlage	4—5 mg/kg	15—20 mg/kg
Pagodenstellung	ab 4—6 mg in mehreren Fällen	bis 40 mg nicht beobachtet
Atmungslähmung	4—5 mg	20—30 mg
Reflexlosigkeit	4—6 mg	30—40 mg

Aus diesen Befunden ergibt sich, daß das Nikotin wesentlich wirksamer als das Isolobinin ist, etwa vier- bis sechsfach stärker. Das Nikotin ist am Frosch fast genau so wirksam wie an der Ratte, das Isolobinin dagegen viel schwächer. Erst 30—40 mg/kg wirken lähmend, während an der Ratte schon 0,3—0.4 mg einen Atmungsstillstand hervorriefen.

Das Wirkungsbild war bei beiden Stoffen ziemlich ähnlich. Eine Pagodenstellung wurde beim Nikotin in vielen Fällen, mit Isolobinin allerdings in keinem Falle beobachtet. Es mag sein, daß diese für Nikotin als spezifisch betrachtete Reaktion an Rana esculenta und in höheren Dosen auch eher in Erscheinung tritt, wie es Richter ja auch beschrieben hatte. Besonders betont werden muß aber noch, daß weder mit Nikotin noch mit Isolobinin Erregungserscheinungen oder Krämpfe an den Fröschen erzielt wurden, wie am Warmblüter. Vielleicht kann aus dieser Tatsache, daß am Frosch mit seiner geringeren Empfindlichkeit* keine Krämpfe auftreten, auch die Tatsache erklärt werden, daß das Isolobinin so wenig wirksam ist. Die lähmende Eigenschaft, die am Kaltblüter das Bild beherrscht, ist vermutlich auch erst mit höheren Dosen nachzuweisen, beim Nikotin mögen diese Dosen relativ niedriger liegen.

2. Curarinartige Wirkungen.

Die lähmende Wirkung von Isolobinin und Nikotin wurde auf ihren Angriffspunkt analysiert, weil die Vermutung bestand, daß sie curarinartigen Charakter besitzen kann. Für diese Möglichkeit lagen nach den Erfahrungen mit Nikotin Anhaltspunkte vor. In einer Anzahl von Versuchen, in denen nach Injektion von Isolobinin Lähmungen eingetreten waren, wurde die Erregbarkeit des N. ischiadicus in diesem Stadium geprüft. In zwei derartigen Versuchen war die indirekte Erregbarkeit des Muskels auf beiden Seiten erloschen, während der Muskel bei Reizung mit

* Auch für Cardiazol liegt die Krampfdosis am Frosch etwa dreimal höher als an Kaninchen oder Ratten.

Schlitteninduktorium bei Rollenabstand 20—23 cm ansprach. In einigen weiteren Versuchen wurde dies in der Anordnung des Claude Bernardschen Versuches geprüft. Es zeigte sich dabei, daß nach Eintritt der Lähmung der Versuchstiere die indirekte Erregbarkeit am nicht abgebundenen Bein erloschen, während sie auf der abgebundenen Seite noch deutlich vorhanden war. Die Muskelerregbarkeit war in diesen Versuchen auf der nicht abgebundenen Seite deutlich größer als auf der abgebundenen. Diese Beobachtungen sprechen eindeutig dafür, daß das Isolobinin ebenso wie das Nikotin eine curarinartige Wirkung ausüben kann.

Diese Befunde wurden an einer weiteren Versuchsreihe mit isolierten Nerv-Muskel-Präparaten bestätigt. Die Einwirkung von Isolobinin auf den Nerven selbst in Konzentrationen bis 1/5000 war ohne lähmenden Einfluß, dagegen erlosch die indirekte Erregbarkeit, wenn das Nerv-Muskel-Präparat Konzentrationen von 1/100000 ausgesetzt wurde.

Über die Wirksamkeit von Lobelin am Frosch liegen in der Literatur Angaben vor. Antal[34] fand 50—100 mg/kg atmungslähmend und krampferzeugend. Reinartz[35] erzielte mit 30—60 mg/kg Lähmungen und mit 100—200 mg/kg tödliche Krämpfe. Diese Werte liegen nicht weit über den von uns für Isolobinin gefundenen Grenzdosen. Es besteht hier also kein so großer Unterschied in der Wirksamkeit der beiden Alkaloide wie an der Ratte. Auf dem trägeren Stoffwechsel des Kaltblüters kann dies nicht beruhen, denn dann müßte ja das sehr labile Isolobinin am Frosch auch eher verstärkt erscheinen. Es kann vermutet werden, daß der weniger empfindliche Frosch auf kleinere Dosen Isolobinin nicht mit Erregungen anspricht und in den höheren Gaben schon durch die Curarinwirkungen gelähmt wird. Das Lobelin besitzt nach den Angaben von Antal und von Reinartz aber nicht diese Wirkungen am Nervenende, es unterscheidet sich also auch darin von dem Isolobinin und Nikotin. Auch das Nikotin, welches eine hohe Wirksamkeit am Nervenende besitzt, wirkt wohl aus diesem Grunde am Frosch nicht erregend, sondern nur lähmend.

3. Versuche am Skeletmuskel des Frosches.

Nikotin erzeugt am Skeletmuskel schon in sehr geringen Konzentrationen Kontrakturen (Langley[36], Riesser[37] u. a.). Nach den Angaben von Petermann[38] ist die Empfindlichkeit einiger Muskeln ganz verschieden. Er konnte für die Muskeln des Wasserfrosches z. B. folgende Grenzen feststellen: am M. rectus abd. 1/900000000, am M. gastrocnemius 1/3000000 und am M. sartorius 1/400.

Wir fanden am Grasfrosch nicht die gleiche Empfindlichkeit, aber auch die starken Unterschiede einzelner Muskeln. Während Nikotin mit 1/3000000 in 2 Minuten eine deutliche Kontraktur erzeugte, gelang dies mit Isolobinin erst mit Konzentrationen von 1/200000 ab. Am M. ileofibularis wirkten erst 1/300—1/10000. Am M. sartorius und am Zwerchfellmuskel konnten auch mit höheren Konzentrationen keine Kontrakturen ausgelöst werden.

Das Wirkungsbild zeigte dem Nikotin gegenüber keinen Unterschied. Die Wirkung war nach dem Auswaschen reversibel. Wenn höhere Konzentrationen geprüft wurden und längere Zeit einwirkten, dann kam es nicht zu einer anschließen-

[34] Antal: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **115**, 351 (1926). — [35] Reinartz: Ebenda **163**, 279 (1931). — [36] Langley: J. Physiol. (Brit.) 1906, S. 7, 8, 9. — [37] Riesser: Verh. dtsch. pharmak. Ges., X. Tagung in Königsberg 1930. — [38] Petermann: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **160**, 546 (1931).

den Lähmung und Lösung der Kontraktur. Im Anschluß an diese Einwirkung konnte allerdings nach Auswaschen mit Ringer über längere Zeit mit den sonst wirksamen Grenzkonzentrationen keine neue Kontraktur mehr ausgelöst werden. Das gleiche tachyphylaxieähnliche Verhalten bestand bei Nikotin und Isolobinin.

Zusammenfassend kann für die Muskelwirkungen von Nikotin und Isolobinin ein gleichartiges Verhalten festgestellt werden. Nikotin erwies sich nur als etwas wirksamer. Lobelin dagegen besitzt keine solche nikotinähnliche Muskelwirkung. In Konzentrationen bis 1/1000 wirkte es kaum kontrahierend.

IV. Lokale Reizwirkungen.

Es ist schon von Richter beschrieben worden, daß beim Umgehen mit der pulverförmigen Substanz, aber auch beim Zerstäuben konzentrierterer Lösungen in den Laboratoriumsräumen Reizwirkungen an Schleimhäuten der Nase und oberen Rachenwege von Mitarbeitern veranlast werden können. Es wurde eine weitere Prüfung dieser Reizwirksamkeit vorgenommen.

A. Geschmacksprüfung am Menschen.

Von stärksten Verdünnungen aufsteigend wurden verschiedene Konzentrationen zur Spülung der Mundhöhle aufgenommen, ohne sie zu verschlucken. Dabei erwiesen sich Konzentrationen bis zu 1/3 000 000 völlig geschmacks- und reizfrei. Nur eine Versuchsperson empfand bei etwa 1/3 000 000 als Grenze, aber alle anderen Versuchspersonen erst bei 1/1 000 000 deutliche Reizwirkungen. Es trat nach einer Latenz von wenigen Minuten ein kratzendes Gefühl, besonders am Zungengrund auf, welches auch nach Spülen mit Wasser erst nach einigen Minuten verschwand. Ein ausgesprochener Geschmack kam den Lösungen nicht zu.

B. Prüfung der Reizwirksamkeit im Tierversuch.

Am dekapitierten Frosch (Türkscher Reflexfrosch) wurde geprüft, ob beim Eintauchen eines Beines in die Isolobininlösung dieses zurückgezogen und ein Wischreflex des gegenseitigen Beines ausgelöst wurde. Hier erwies sich Isolobinin unwirksam bis zu Konzentrationen von 1/1000.

Ebenso blieben Reiz- und Entzündungsreaktionen am Kaninchenauge aus, wenn 2 gtt. der Isolobininlösung eingeträufelt wurden. Dabei wurden Konzentrationen bis zu 1/5000 geprüft. Diese Lösungen bewirkten weder eine schmerzbedingte Schließung der Lider, noch Rötung der Konjunktiven, Chemosis oder dergleichen.

Nach dieser Prüfung kann Isolobinin nicht als ein allgemeines Reizgift bezeichnet werden, aber es besitzt wenigstens beim Menschen Reizwirkungen auf empfindliche sensorische Elemente.

C. Brechenerregende Wirksamkeit an Katzen.

In Ergänzung der früheren Versuche von Richter, der an Hunden die brechenerregende Wirksamkeit von Isolobinin festgestellt hat, wurde diese Wirkung auch an Katzen ermittelt. Es war anzunehmen, daß diese Brechwirksamkeit die Folge einer Schleimhautreizwirkung ist, daß das

Brechzentrum also reflektorisch erregt wird und nicht auf resorptivem Wege. Für diese Annahme sprechen auch spätere Erfahrungen mit subcutanen Injektionen von Isolobinin bei der Katze. Dabei wurde nämlich festgestellt, daß erst Gaben von 4—8 mg/kg stärkere zentrale Erregungen bzw. Lähmungen auslösten. Dabei wurde nur in einzelnen Fällen und zum Teil erst in späteren Stadien der Vergiftung Erbrechen beobachtet.

Die Prüfung der Brechwirksamkeit erfolgte an drei Katzen, bei denen nach mehrtägigen Intervallen wiederholt Isolobinin mit der Schlundsonde verabreicht wurde. Dabei wurde die zugeführte Flüssigkeitsmenge immer mit 15 ccm bemessen. Die Tiere waren vor dem Versuch nüchtern geblieben. Als Ergebnis der Versuche konnten folgende Grenzwerte festgestellt werden, die bei den einzelnen Tieren deutliche Empfindlichkeitsunterschiede anzeigten:

weiße Katze: 0,01—0,02 mg/kg,
graue Katze: 0,1—0,2 mg/kg,
braune Katze: 0,05 mg/kg.

Die Brechwirkung erfolgte bei allen Tieren erst 10—15 Minuten nach der Zufuhr. Der Brechwirkung ging in den meisten Fällen ein deutliches Nauseastadium mit Salivation voraus. Dabei fiel besonders auf, daß auch häufig Urin- und Kotabgang eintrat. Es ist unwahrscheinlich, daß diese Reaktion auf eine resorptive Giftwirkung zurückgeführt werden kann, da die peroral resorptive Wirksamkeit von Isolobinin nur sehr gering ist. Die Feststellung der obigen Grenzdosen für die Brechwirkung erlaubt eine Vergleichung mit den entsprechenden Zahlenwerten von Richter am Hund. Danach ist Isolobinin an der Katze noch wirksamer als bei dem Hund, bei dem immer Gaben über 0.1. zum Teil über 1 mg/kg erforderlich waren.

Die Bedeutung dieser Brechwirksamkeit des Isolobinins, welches in der Tinktura lobeliae in genügenden Mengen vorhanden ist, für die therapeutische Wirkung der Droge bei Asthma, ist schon von Richter erörtert worden.

V. Vergleichung von Isolobinin- und Arecolinwirkung.

Das Nebenalkaloid der Lobeliadroge Isolobinin hat eine bemerkenswerte Ähnlichkeit mit der Nikotinwirkung gezeigt. Auf Grund einer chemischen Untersuchung von Wieland und Mitarbeitern sind wir über die chemische Konstitution der Alkaloide aus der Lobiningruppe unterrichtet. Das Isolobinin, das zuerst von Thomä rein dargestellt wurde, ist eine dem Lobinin strukturisomere Verbindung. Die Lobiningruppe besitzt durchaus keine direkte Verwandtschaft zu dem Nikotin, besonders bestehen in der Anordnung der Seitenketten an dem basischen Ring wesentliche Unterschiede. Es schien von Interesse, einen Stoff mit diesen Nebenalkaloiden aus der Lobeliagruppe zu vergleichen, der in seiner Struktur einen ähnlichen Ring als Grundskelet besitzt, nämlich einen Tetrahydro-

piridinring. Dieser Stoff ist das Arecolin. Vom Arecolin ist bekannt, daß es auf das parasympathische Nervensystem errregend wirken kann, ferner sind auch erregende Wirkungen auf sympathische Ganglienzellen beschrieben worden und schließlich sind auch erregende Wirkungen auf das Zentralnervensystem beobachtet worden.

1. Arecolinwirkungen an der Ratte.

Das Arecolin wurde subcutan injiziert, nachdem die Versuchstiere vorher 0.3 mg kg Atropin erhalten hatten. Diese Vorbehandlung erschien erforderlich, um die Nebenwirkungen des Arecolin am parasympathischen Nervensystem auszuschalten. Es sollte nämlich geprüft werden, ob das Arecolin wie das Nikotin und Isolobinin eine krampferregende und atmungshemmende Wirkung besitzt. Die Versuche ergaben in Dosen bis 5 mg/kg keinerlei Wirkung. Nach Gaben von 10—15 mg/kg wurden die Tiere unruhig und zitterten. Es bestand keine Reflexübererregbarkeit, von vegetativen Symptomen zeigte sich lediglich eine Salivation. Nach 50 mg kg wurden gelegentlich auch leichte tonisch-klonische Krämpfe beobachtet. Nach Gaben von 60 mg/kg traten starke Krampferscheinungen auf, die länger anhielten. Es folgte ein Stadium der Seitenlage mit oberflächlicher Atmung, aber ohne Cyanose. Bauch- und Thorax-Muskulatur erschienen gespannt. Die Tiere erholten sich nach etwa 10 Minuten aus diesem Zustand. In der folgenden Mitteilung wird gezeigt werden, daß bei der Reinjektion keine Tachyphylaxie besteht, wie sie vom Nikotin und Isolobinin her bekannt ist.

Als zusammenfassendes Ergebnis dieser Versuchsreihe kann festgestellt werden, daß die Arecolinwirkung am Zentralnervensystem keine Übereinstimmung mit der Isolobininwirkung am Ganztier zeigt.

2. Arecolinwirkungen am Froschmuskel.

Für das Isolobinin war am isolierten Froschmuskel eine typische durch Atropin zu verhindernde Kontrakturwirkung festgestellt worden. Auch das Arecolin vermochte am Muskulus rectus des Frosches eine Kontraktur zu erzeugen, welche aber erst bei einer Konzentration von 1/10000 und höher einzutreten pflegte, also in einer ganz anderen Größenordnung als bei Isolobinin. Ferner konnte dieser Arecolineffekt durch Atropinvorbehandlung auch in Atropinkonzentrationen 1/10000 nicht verhütet werden. Erst eine Vorbehandlung mit Atropin 1/1000, welche den Skelettmuskel ganz unspezifisch zu lähmen vermag, hob auch diese Arecolinwirkung auf. Es bestand also auch hier keine Ähnlichkeit zwischen Arecolin und Isolobinin.

Zusammenfassung.

Ein von Thomä aus der Lobelia dargestelltes Alkaloid der Lobiningruppe, das von Richter in seinen Haupteigenschaften schon beschrieben worden ist, wurde unter besonderer Vergleichung mit Nikotin und Arecolin weiter geprüft.

Nikotin und Isolobinin bewirkten bei der Ratte in tödlicher Dosierung eine „spastische Apnoe" und folgende klonische Krämpfe. Narkotica verhüteten diesen Vergiftungsablauf, so daß der Atemstillstand nicht auf eine Lähmung zurückgeführt werden kann.

Das Isolobinin war bei der Ratte etwa achtmal stärker toxisch als das Nikotin. Bei peroraler Zufuhr verlor es aber stärker an Wirksamkeit als das Nikotin. Diese labilere Verbindung scheint wie Lobelin schneller in der Leber abgebaut zu werden.

Krämpfe und Atemstillstand nach Injektion von Isolobinin und Nikotin konnten nicht aus einer Erregung und Lähmung der Chemorezeptoren im Carotissinus erklärt werden, da sie auch nach operativer Ausschaltung des Sinus oder nach Lähmung durch ganglionäre Gifte auftraten. Eine Hyperventilation konnte auch nicht als auslösende Ursache des Atemstillstandes nachgewiesen werden.

Eine antagonistische Wirkung zu dieser toxischen Isolobininreaktion an der Ratte übten lediglich echte Narkotica aus. Morphin verstärkte eher die Krampfneigung. Papaverin, Atropin und Ergotamin ließen keine Hemmung erkennen, dagegen wurde durch Adrenalinvorbehandlung die Isolobininwirkung abgeschwächt.

Bei Kaninchen und Katzen war Isolobinin auch bei intramuskulärer Injektion weniger wirksam als Nikotin. Das Vergiftungsbild war bei beiden Stoffen ziemlich ähnlich, es fehlte aber die „spastische Apnoe", wie bei den Ratten. Isolobinin ließ bei den Katzen vorwiegend Lähmungserscheinungen erkennen. Nikotin löste dagegen bei Katzen und Kaninchen vor und neben eigentlichen Lähmungen auch noch typische Krämpfe aus.

Auch am Frosch war Nikotin wirksamer als Isolobinin. Beide Gifte wirkten hier nicht erregend, sondern nur lähmend. Die Lähmung der Tiere war curarinartig. Das Isolobinin besitzt entgegen dem Lobelin schon in niedrigen Konzentrationen solche lähmenden Wirkungen auf die motorische Nervenendplatte. Am Skeletmuskel des Frosches wirkte Isolobinin in der gleichen Weise wie Nikotin kontrakturerzeugend, aber erst in etwa zehnfach höherer Konzentration. Das Lobelin hat diese Wirkung nicht.

Das Isolobinin zeigt an der Schleimhaut des Menschen heftige Reizwirkungen. Auf eine solche muß auch seine hohe Brechwirksamkeit zurückgeführt werden.

Arecolin besitzt in seiner Ringstruktur eine gewisse Verwandtschaft zum Isolobinin. Nach seinen Wirkungsbedingungen am Zentralnervensystem der Ratte und an der quergestreiften Muskulatur besteht aber keine Ähnlichkeit zur biologischen Wirksamkeit des Isolobinins.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Westfälischen Wilhelms-Univ. Münster.
(Direktor: Prof. Dr. L. Lendle.)

Über eine tachyphylaktische Wirkung von Isolobinin und Nikotin am Zentralnervensystem.

Von

Hans Ruppert.

(Eingegangen am 6. März 1942.)

Der Begriff der Tachyphylaxie hat in der modernen Pharmakologie der Adrenalinersatzpräparate vom Charakter des Ephedrins, aber auch anderer kreislaufwirksamer Stoffe (Hypophysenhinterlappenhormon und Sympathicomimetica) eine besondere Bedeutung gewonnen. Es wird darunter die Abschwächung oder Aufhebung der Wirkung eines Mittels bei wiederholten Gaben verstanden, also gewissermaßen eine akute Gewöhnung.

Rietschel[1] hat die Tachyphylaxie neuerdings in ihrer Bedeutung für die Kreislaufpharmakologie allgemeiner dargestellt und dabei als wesentliche Ursache solcher tachyphylaktischer Reaktionen eine Umstimmung der Reaktionsbedingungen im vegetativen Nervensystem bezeichnet. Diese Auffassung besitzt also auch Gültigkeit für tachyphylaktische Wirkungen an anderen vegetativ-innervierten glattmuskeligen Organen als den Gefäßen.

Die ältere Literatur weist zur Erklärung der Tachyphylaxie Theorien verschiedenster Autoren auf, so von Schaumann, Larson, Mügge, Eichler, Tabacs, Feldberg, Reinartz u. a. In neuer Zeit haben Rietschel sowie Orzechowski und Mitarbeiter[2] wertvolle Beiträge zum Tachyphylaxieproblem geliefert. Rietschel fordert für das Zustandekommen tachyphylaktischer Reaktionen, daß bei einem zweiten pharmakologischen Reiz noch unzerstörte Substanz von der vorhergehenden Injektion im Organismus kreist. Daher sind der Grad und die Dauer der Tachyphylaxie abhängig von der Stabilität des Stoffes. Durch die von der ersten Injektion noch vorhandene Substanz wird eine Umstimmung im vegetativen Nervensystem für folgende Reize erzeugt: sympathicomimetische Stoffe z. B. verschieben dabei die Reaktionslage des autonomen Nervensystems in der Richtung einer parasympathisch gesteigerten Erregbarkeit. Dies ließ sich beweisen an der Erhöhung der Tachyphylaxiebereitschaft durch Ergotaminsensibilisierung und an der Durchbrechung bzw. Abschwächung der Tachyphylaxie durch Atropin und Cocain. Rietschel hält diese Umstellung im vegetativen System für eine Schutzmaßnahme des Organismus gegen wiederholte Kreislaufbelastungen mit hohem Sauerstoffverbrauch.

Auch Orzechowski und Mitarbeiter fordern von den tachyphylaktisch wirkenden Stoffen eine lange Verweildauer mit besonderer Haftfähigkeit am Orte des Angriffs. Bestimmte chemische Stoffe wie z. B. Veritol, das als Sympathicomimeticum die sympathischen Endigungen blockiert, bewirken nach ihrer Auf-

[1] Rietschel: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 454 (1939). — [2] Orzechowski: Ebenda **196**, 237 (1940).

fassung eine „substantielle Blockade" spezifischer Strukturen, so daß Adrenalin oder Sympatol keinen Angriffspunkt mehr finden und wirkungslos bleiben.

Auch das Nikotin zeigt ein tachyphylaktisches Verhalten bei seinen Wirkungen auf die glatte Muskulatur von Darm und Gefäßen. Es ist bekannt, daß nach wiederholten Injektionen von Nikotin die Blutdrucksteigerungen geringer werden oder ganz ausbleiben. In diesem Falle hat die Analyse aber auch den Charakter dieses Tachyphylaxie-ähnlichen Verhaltens in anderer Weise zu erklären vermocht. Nikotin erregt in kleinen Gaben sympathische Ganglienzellen und führt durch Reizung des „ganglionären" Nebennierenmarks zu einer Adrenalinausschüttung. Größere Nikotingaben lähmen die ganglionären Elemente, so daß weder die postganglionären sympathischen Fasern einen Erregungsimpuls erhalten, noch erneut Adrenalin ausgeschüttet wird. Bei allen sogenannten tachyphylaktischen Reaktionen ist daher immer an die Möglichkeit zu denken, daß auch Nikotin-ähnliche Wirkungen an ganglionären Apparaten beteiligt sein können.

Richter[3] fand ein dem Nikotin gleichartiges Verhalten auch bei dem Isolobinin, einem Alkaloid der Lobeliadroge*. Er durchströmte das Ganglion cervicale superius der Katze mit Isolobinin und prüfte an der Reaktion der Nickhaut die Erregung des Ganglions bei wiederholten Injektionen, dabei konnte er nach erstmaliger Erregung später eine Lähmung des Ganglions auch für präganglionäre Reize feststellen. Auch am Blutdruck nebennierenloser Katzen beobachtete er ein „tachyphylaktisches" Verhalten von Isolobinin und Nikotin.

Richter machte bei weiteren Untersuchungen mit den beiden Alkaloiden an der Ratte die Beobachtung, daß nach subcutaner Injektion von 0,2 mg pro kg Isolobinin oder von 2,4 mg pro kg Nikotin innerhalb einiger Sekunden höchste motorische Unruhe, Atmungserregung, anschließende Atmungssperrung und tonisch-klonische Krämpfe auftraten. Die Tiere erholten sich schnell und reagierten bei Reinjektion tachyphylaktisch, es blieben bei gleicher Dosierung Krampf und Erregungserscheinungen aus. Diese Beobachtungen konnten wir in unseren neuen Versuchen jederzeit bestätigen. Diese Tachyphylaxie bei der Einwirkung anscheinend zentralnervöser Gifte besitzt keine Parallele im Verhalten anderer Krampf- und Erregungsgifte. In der Literatur sind lediglich Gewöhnungserscheinungen beim chronischen Gebrauch von erregend wirkenden Giften beschrieben**.

---

* Von Richter in seiner Arbeit als B_1 bezeichnet, vgl. dazu die vorausgehende Arbeit.

** Möglicherweise besteht hier eine Parallele zur Erfahrung von Bonsmann[4], der bei der Prüfung auf Diurese-hemmende Wirkungen von Morphin und Tonephin am Hund ein tachyphylaktisches Verhalten beobachten konnte. Auch bei seinen Befunden war die Frage erhoben worden, ob vielleicht neben einer Wirkung am hypothetischen Diuresezentrum Kreislaufwirkungen eine Rolle spielen konnten. Es würde sich dann auch nicht um eine Tachyphylaxie am Zentralnervensystem handeln.

[3] Richter: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 280 (1938). — [4] Bonsmann: Ebenda **179**, 72 (1935).

In kurzfristigem Abstand wiederholte Gaben von Krampfgiften pflegen sich in ihren Wirkungen zu addieren. Es bestand daher die Möglichkeit, anzunehmen, daß Erregung und Krämpfe nach Nikotin vielleicht nicht durch direkte Erregung im Zentralnervensystem, sondern indirekt etwa über Gefäßspasmen oder andere vielleicht ganglionäre Mechanismen zustande kommen könnten. Bei einem derartigen Verhalten wäre es dann auch leichter möglich, zu verstehen, daß sich eine Tachyphylaxie im bekannten Sinne entwickelt.

In der vorausgegangenen Arbeit[5] wurde das Vergiftungsbild von Nikotin und Isolobinin genauer dargestellt und ihr Wirkungsmechanismus erneut analysiert. Es schien danach möglich zu sein, daß sich auch diese zentralnervöse Tachyphylaxie irgendwie an ganglionären Elementen des Nervensystems abspielt. Wir glaubten anfänglich, wie in der ersten Mitteilung erwähnt, daß die Atmungserregung Ausdruck einer Reizung, und der nachfolgende Atemstillstand Ausdruck einer Lähmung der Chemorezeptoren im Carotissinus ist; die Krämpfe wären dann als Erstickungskrämpfe deutbar gewesen. Diese Vermutung ließ sich in den Versuchen der vorausgehenden Arbeit jedoch nicht bestätigen.

Im Zusammenhang mit dieser Analyse der Krampfwirkungen der beiden Stoffe und in Erweiterung der ersten Erfahrungen von Richter wurden im folgenden die Bedingungen dieses eigenartigen tachyphylaktischen Verhaltens von Isolobinin und Nikotin nach verschiedenen Richtungen quantitativ vergleichend geprüft*.

Zur Methodik.

Die Versuche wurden in der Hauptsache an der empfindlichen Tierart, der Ratte, ausgeführt. Für die Bewertung der Wirkungsstärke wurden einige Stadien des Vergiftungsverlaufs mit folgenden Zeichen festgelegt: + bedeutet Atemstillstand mit Cyanose und anschließenden klonisch-tonischen Krämpfen; (+) bedeutet einen spontan reversiblen Atemstillstand, Cyanose, aber keine Krämpfe; ± bedeutet einen Zustand, in welchem die Tiere ataktisch mit gelähmten und nachgeschleppten Hinterbeinen etwas erregt herumliefen; ein geringerer Grad der Erregung ohne Lähmungserscheinungen wurde mit — bezeichnet. Diese Kennzeichnung wurde in allen folgenden Tabellen verwendet, um den höchsten Grad der erreichten Wirkung bei der ersten und bei wiederholten Injektionen festzulegen. Bei der quantitativen Prüfung wurde das Ausmaß der Tachyphylaxie bestimmt durch die bei der Reinjektion erforderlichen Dosis für die Erzeugung des Stadiums (+) oder +.

1. Grenzdosis von Isolobinin und Nikotin.

Für die Ermittlung der tachyphylaktischen Wirksamkeit der beiden Alkaloidstoffe war die Festlegung ihrer wirksamen Grenzdosen Voraussetzung, denn alle Schlüsse auf eine Beeinflussung der tachyphylaktischen Reaktionen können nur auf solche Abweichungen von diesen Grenzwerten begründet werden, die außerhalb der Streuung liegen. Die Versuchs-

[5] Lendle u. Ruppert: Vgl. dieses Heft, S. 478.

* Der Fa. C. H. Boehringer Sohn, Nieder-Ingelheim, danken wir für die freundliche Überlassung des hier verwendeten Isolobinin-Präparates.

Tabelle 1. Krampfwirksamkeit von Isolobinin.

mg/kg Isolobinin	Versuchszahl	Maximal erreichte Wirkung			
		−	±	(+)	+
0,01−0,05	30	27	3	0	0
0,075	6	0	6	0	0
0,1	31	14	17	0	0
0,2	5	0	0	5	0
0,3	11	0	0	2	9
0,4	23	0	0	2	21
0,5 u. höher	über 30	0	0	0	alle

Tabelle 2. Krampfwirksamkeit von Nikotin.

mg/kg Nikotin	Versuchszahl	Maximal erreichte Wirkung			
		−	±	(+)	+
0,3	5	5	0	0	0
0,5	6	3	3	0	0
0,6	4	2	2	0	0
0,7	5	2	2	1	0
1,0	10	0	1	3	6
1,5	4	0	2	1	1
2,0	7	0	2	0	5
2,5	11	0	1	0	10

ergebnisse mit Isolobinin und Nikotin sind in Tabelle 1 und 2 zusammengestellt. Darin sind für die einzelnen Dosierungen die Zahlen der Versuchstiere, welche das betreffende maximale Wirkungsstadium erreichten, angegeben. Die tabellarische Anordnung läßt erkennen, daß mit steigender Dosierung die höheren Wirkungsgrade in einem höheren Prozentsatz erreicht wurden.

Auf Grund dieser Prüfung an einem größeren Tiermaterial können die folgenden Grenzdosen festgelegt werden, die auch bei den anschließenden Prüfungen als Vergleichswerte zugrunde zu legen sind. Wirksame Krampfdosis von Isolobinin: 0,3 mg pro kg, wirksame Krampfdosis von Nikotin: 2,0—2,5mg pro kg.

2. Dauer der Tachyphylaxie.

Erfahrungsgemäß nimmt eine Tachyphylaxie nach einer gewissen Zeit ab, die von den Eliminationsbedingungen für den Stoff, aber auch von den Veränderungen der Reaktionslage des Organismus abhängig sein mag. In der vorliegenden Untersuchung interessierte die Frage vorwiegend aus methodischen Gründen, weil, um die Beeinflussung der tachyphylaktischen Wirkungen beurteilen zu können, die zeitlichen Bedingungen der Wirkungsprüfung von Wichtigkeit sind. Es mußte die Zeitgrenze festgelegt werden, innerhalb derer bestimmt noch mit tachyphylaktischer Wirkung zu rechnen war, wenn die oben erwähnten Grenzdosen verabreicht wurden. Bei der Erstinjektion von 0,3—0,6 mg pro kg Isolobinin war dabei stets das volle

Vergiftungsbild zu erkennen. Als Reinjektionsdosis wurde jedesmal die gleiche Dosis wie die Vordosis verabreicht.

Die Ergebnisse dieser Prüfung sind für das Isolobinin in der Tabelle 3 zusammengestellt. Die Zeichen in der Tabelle sind die gleichen, die für die Tabelle 1 und 2 verwendet und erklärt wurden; die Anzahl der Zeichen gibt die Zahl der Versuche an.

Tabelle 3.
Dauer der Tachyphylaxie.

Reinjektion nach Minuten	Maximale Wirkung nach Reinjektion
60	— — —
80	— — — — ±
85	± +
100	— ± ± ± ±
120	± ± ± +
140	± (+) +
160	+ + + +

Daraus ergibt sich, daß bei Verabreichung von 0,3—0,6 mg pro kg Isolobinin, d. h. bei Gaben bis zur doppelten Grenzdosis, eine tachyphylaktische Wirkung innerhalb von 2 Stunden erkennbar bleibt, im Verlauf von 3 Stunden aber abklingt.

3. Wechselseitige Tachyphylaxie zwischen Isolobinin und Nikotin.

Es ist aus der Literatur bekannt, daß verschiedene am Gefäßsystem tachyphylaktische Stoffe dieses Verhalten wechselseitig zeigen können. Richter hatte auch schon für Isolobinin und Nikotin ein derartiges Verhalten im Hinblick auf die Krampfwirkungen festgestellt. Dieser Befund wurde unter Berücksichtigung der oben festgelegten quantitativen Wirkungsbedingungen nochmals genauer geprüft. Das Zeitintervall zwischen Injektion des einen Alkaloids und Reinjektion des anderen betrug 20—40 Minuten. Die Ergebnisse der Versuche, die in Tabelle 4 unter Verwendung der üblichen Zeichen zusammengestellt wurden, lassen erkennen, daß die Tachyphylaxie, die das Isolobinin für das Nikotin hinterläßt, etwas deutlicher ist, als wenn man zuerst Nikotin gibt und dann erst Isolobinin injiziert.

Tabelle 4. Wechselseitige Tachyphylaxie zwischen Nikotin und Isolobinin.

Vorinjektion		Nachinjektion	
Isolobinin mg/kg	Maximale Wirkung	Nikotin mg/kg	Maximale Wirkung
0,4	+	2,0	—
0,4	+ + + + +	2,5	— — — — ±
0,5	(+)	2,0	±
0,5	+	2,5	—
Nikotin	**Maximale Wirkung**	**Isolobinin**	**Maximale Wirkung**
2,0	+ +	0,4	± +
2,0	+ +	0,5	+ +
2,5	(+) + + + + + +	0,4	— ± ± ± (+) (+) +
2,5	+ +	0,5	± +

Ein Teil des Wirkungsunterschiedes mag vielleicht auch auf die Tatsache zurückzuführen sein, daß die Isolobininmenge in beiden Versuchsreihen etwas oberhalb der Grenzdosierung gelegen war. Jedenfalls aber kann die wechselseitige Tachyphylaxie zwischen Isolobinin und Nikotin bestätigt werden.

4. Wechselwirkungen von Arecolin, Apocodein und Cardiazol zu Isolobinin.

Diesen Stoffen (mit Ausnahme des Cardiazols) ist der Angriffspunkt am vegetativen Nervensystem und die Erzeugung tonisch-klonischer Krämpfe in höheren Dosen gemeinsam. Sie können mit Ausnahme des Cardiazols auch ganglionäre Elemente erregen und lähmen. Es besteht damit offenbar eine Wirkungsverwandtschaft zum Isolobinin und Nikotin, die die Möglichkeit offen ließ, daß vielleicht auch zwischen diesen Pharmaka und dem Isolobinin eine wechselseitige zentralnervöse Tachyphylaxie herzustellen sei.

a) Arecolin. Dieser Stoff wurde wegen der chemischen Verwandtschaft bereits in der vorausgehenden Mitteilung mit Isolobinin verglichen und näher erläutert. Tachyphylaktische Reaktionen sind in der Literatur von Arecolin nicht bekannt. An dem beatmeten Lungenpräparat der Katze nach Kiese[6] wirkten wiederholte Injektionen gleich stark bronchospastisch.

b) Apocodein. Dixon[7] gibt für Apocodein eine Lähmung der sympathischen und parasympathischen Ganglien an. Krayer[8] erreichte eine Lähmung des Ggl. cerv. sup. auch mit Apocodeinbetupfung. Magnus[9] beschreibt Apocodeinwirkungen auf den Blutdruck, die offenbar, wenn auch von Magnus selbst damals noch nicht ausgesprochen, als tachyphylaktische Reaktionen anzusehen sind. Auch Krayer gibt ähnliche abnehmende Blutdruckwirkungen bei wiederholten Injektionen an.

c) Cardiazol. Dieser als Analepticum bekannte Stoff erzeugt in höheren Dosen tonisch-klonische Krämpfe. Der Angriffspunkt ist nach sorgfältigen Untersuchungen von Schoen[10] hauptsächlich an subcorticalen Zentren gelegen.

Es war zur Prüfung dieser Fragen die Festlegung der wirksamen Krampfdosen dieser drei Stoffe erforderlich. Literaturangaben über krampfwirksame Grenzdosen, an der Ratte sind selten. Für Apocodein wurde in eigenen Versuchen als wirksame Krampfdosis 40—60 mg/kg für Cardiazol 60 mg/kg und für Arecolin* 60—70 mg/kg. gefunden.

In zahlreichen Versuchen wurden nun mit diesen drei Stoffen Krämpfe erzeugt; nach völliger Erholung aus diesem Zustand bekamen die Tiere nochmals die gleiche Dosis. Es traten bei Apocodein und Cardiazol nach der Reinjektion stets erneut Krämpfe auf. Bei Arecolin schienen nach der wiederholten Injektion die zentralen Erscheinungen zum Teil etwas abgeschwächt zu sein. Wenn man statt der Reinjektion dieser drei Stoffe aber 0,4—0,5 mg/kg Isolobinin als zweite Injektion gab, dann traten jedesmal Krämpfe auf; das gleiche galt für den Fall, wenn Isolobinin die erste Injektion war, und nach der Erholung die Injektion eines der drei untersuchten Krampfgifte folgte.

Es konnte also mit keinem der drei Krampfgifte eine wechselseitige Tachyphylaxie gegen Isolobinin nachgewiesen werden.

* Da das Arecolin starke periphere Vaguswirkungen besitzt, wurde seine Krampfwirksamkeit großenteils an Ratten geprüft, die mäßige Atropindosen (0,3 mg/kg) erhalten hatten.

[6] Kiese: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **178**, 347 (1935). — [7] Dixon: J. Physiol. (Brit.) **30**, 97 (1903). — [8] Krayer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **111**, 60 (1926). — [9] Magnus: Heffters Handb. exper. Pharm. **1**, 1. — [10] Schoen: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **113**, 257 (1926).

5. Beeinflussung der Tachyphylaxie.

In diesem Teil der Arbeit sollte versucht werden, durch verschiedene pharmakologische Einflüsse nicht nur die Krampfwirksamkeit der beiden Alkaloidstoffe zu verhüten, sondern auch ihre tachyphylaktische Reaktion. Es wurden für diesen Zweck aus bestimmten Überlegungen verschiedene Pharmaka gewählt. Möglicherweise konnte aus einer derartigen Beeinflussung der tachyphylaktischen Reaktion ein Schluß auf das Wesen der zentralnervösen Tachyphylaxie gezogen werden.

a) Wirkung der Narkose.

Da es sich bei der Wirkung von Isolobinin und Nikotin um Erregungszustände im Zentralnervensystem handelt, war es von besonderem Interesse, die Wirkung von Narkotica so zu prüfen, daß in der Vorperiode solche Erregungszustände unterdrückt wurden. Es konnte nämlich als möglich betrachtet werden, daß die Tachyphylaxie selbst nicht die Folge einer chemischen Verankerung des Wirkstoffes an spezifischen Rezeptoren des Zentralnervensystems ist, deren Besetzung die Wirkung einer neuen Gabe verhütet (vgl. Orzechowski), sondern daß die Tachyphylaxie ein Folgezustand einer tatsächlich eingetretenen Erregung ist. Dabei wäre durchaus nicht als einzige Ursache anzunehmen, daß der Erregung eine Erschöpfung der Erregbarkeit folgen muß, so daß die Reinjektion ein erschöpftes, unempfindliches Organ treffen würde. Es sollte dabei nur festgestellt werden, ob die Verhütung der Erregung durch die Narkose die Ausbildung einer Tachyphylaxie hemmt.

Es mußte ein schnell eliminierbares Narkoticum gewählt werden, damit keine Nachwirkung der Narkose in der für die Reinjektion des Alkaloidstoffes erforderlichen Zeitspanne (vgl. Kap. 2) mehr in Frage kam. Ferner mußte die Dosierung des Narkoticums nach Möglichkeit auch variiert werden. Nach einigen Vorversuchen mit Avertin erfolgte die Prüfung vorwiegend mit Äthernarkose. Die Versuche wurden mit Isolobinin, nicht mit Nikotin ausgeführt. Die Mehrzahl der Versuche wurde so angelegt, daß die erste Isolobininjektion im Stadium der Areflexie unter Äther erfolgte. Diese Narkosetiefe wurde noch 2—5—10 Minuten nach der Injektion aufrechterhalten. Die Tiere erholten sich dann schnell aus der Narkose. 60 Minuten nach der ersten Injektion erfolgte die Reinjektion von Isolobinin*. Die gewählten Isolobiningaben bewegten sich zwischen 0,5—0,3 mg/kg, waren also recht beträchtlich.

Die in Tabelle 5 dargestellten Befunde lassen also erkennen, daß unter der Äthernarkose (Spalte 2) die Erregungserscheinungen fast vollkommen

* Als Kontrollversuch wurde bei einigen Tieren die erste Injektion von Isolobinin während der narkotischen Areflexie unterlassen. Nach der Erholung aus der Narkose wurde die übliche Dosis injiziert, die Tiere zeigten danach das volle Vergiftungsbild. Damit war sichergestellt, daß es sich bei der Reinjektion in den obigen Versuchen um eine tachyphylaktische Reaktion handelt und nicht um eine Hemmung durch noch bestehende Narkosewirkung.

unterdrückt wurden, und daß bei der Reinjektion doch eine deutliche Tachyphylaxie vorlag; selbst hohe Dosen lösten keine stärkeren Erregungserscheinungen aus.

Tabelle 5. Krampfwirkung von Isolobinin und Tachyphylaxie unter Äthernarkose.

1. Isolobininjektion	Maximale Erscheinungen	Maximale Erscheinungen nach 2. Injektion
0,5	— — — —	— — ± ±
0,7	— — — ±	— — ± ± ±
1,0	— — ± ± ±	± ± ± + +
2,0	— — —	— ± ±
3,0	± ±	± ±

In einigen Versuchen konnte auch bei schwach gehaltener Äthernarkose, wo die Reflexe noch deutlich vorhanden waren und also keine Betäubung des Rückenmarks mitspielte, die erste Isolobininreaktion gehemmt werden. Auch hier bestand volle Tachyphylaxie bei der Reinjektion.

In einer weiteren Versuchsreihe interessierte auch der Einfluß des Morphins. Die Vorbehandlung mit Morphin vermochte auch in großen Gaben bis 40 mg/kg die Krampferregung des Isolobinins nicht zu verhüten, sie war sogar eher verstärkt. Bei der Reinjektion von 0,4 mg/kg Isolobinin war danach in vier Fällen eine volle Tachyphylaxie zu verzeichnen.

b) Vegetative Gifte: Atropin, Ergotamin.

Bei einer allgemeinen pharmakologischen Durchprüfung und den Versuchen der Ermittlung des Angriffspunktes des Isolobinins (vgl. die vorausgehende Mitteilung) wurden auch Atropin und Ergotamin als vegetative Gifte mit herangezogen, weil antagonistische Wirkungen zum Isolobinin vermutet werden konnten. Daran konnte nun die Frage der Tachyphylaxiebeeinflussung mit diesen Stoffen angeschlossen werden. Auch im Hinblick auf die Ergebnisse der Tachyphylaxiebeeinflussung durch Ergotamin und Atropin von Rietschel (s. oben) wurden die Versuche in dieser Richtung erweitert.

Ergotamin wurde in mehreren Versuchen in Gaben von 1,0 mg/kg zwischen der ersten Isolobinininjektion und der Reinjektion verabreicht. Dadurch konnte die übliche Tachyphylaxie nicht verhütet werden. Auf eine etwaige Verstärkung wurde nicht geprüft. Atropin wurde in der gleichen Weise in großen Dosen von 5—10 mg/kg verabreicht; bei 7 von 10 Ratten war trotzdem eine volle Tachyphylaxie entwickelt, nur bei 3 Tieren traten geringe Erregungserscheinungen auf (Stadium ± entsprechend). Dieser Befund kann aber nicht im Sinne einer Abschwächung einer Tachyphylaxie gedeutet werden, wie sie Rietschel bei seinen Versuchen am Kreislauf mit Atropin erzielt hatte.

6. Einschleichversuche mit unwirksamen Vordosen.

Die Versuche mit Äthernarkosen hatten gezeigt, daß tachyphylaktische Reaktionen auch dann zur Entwicklung kommen, wenn bei Erstinjektion keine Erregungserscheinungen aufgetreten waren. Es konnte nun danach die Frage erhoben werden, ob sich eine Tachyphylaxie auch ausbilden kann, wenn von einem Stoff kleine Teildosen in gewissen Zeitabständen wiederholt verabreicht werden, ohne daß dabei eine Krampferregung zustande kommt. Es könnten mit diesem Verfahren auch größere Giftmengen, allerdings über einen längeren Zeitabschnitt verzettelt, zugeführt werden. Nach früheren Erfahrungen mit tachyphylaktischen Kreislaufgiften wie Ephedrin war es unwahrscheinlich, daß sich dabei eine Tachyphylaxie entwickelt, denn bei diesen Pharmaka scheint der erreichte Erregungszustand von Bedeutung für die Ansprechbarkeit in den folgenden Stadien zu sein.

Die beabsichtigten „Einschleichversuche" wurden zunächst mit Isolobiningaben, die etwa $^1/_3$ bis $^1/_6$ oder $^1/_{10}$ der wirksamen Grenzdosis betragen, ausgeführt. Diese Teildosen bekam die Ratte vier- bis sechsmal im Abstand von 10 Minuten; nach der letzten Injektion erfolgte die Injektion der krampferzeugenden Dosis von 0,4—0,5 mg/kg Isolobinin. In allen Fällen bestand eine Tachyphylaxie. Es ergab sich daran anschließend die Frage, ob es überhaupt erforderlich sei, die kleinen Teildosen so häufig zu wiederholen. Weitere Versuche erwiesen, daß sogar einzelne Gaben von $^1/_6$—$^1/_{10}$ der Grenzdosis eine Tachyphylaxie zustande bringen. Die Ergebnisse der Versuche mit Isolobinin sind in Tabelle 6 zusammengestellt.

Gleichartige Versuche wurden auch mit Nikotin ausgeführt, wobei allerdings nur eine Gabe dieser Teildosis verabreicht wurde. 20—30 Minuten später erwies sich die sicher wirksame Krampfdosis von Nikotin als deutlich abgeschwächt oder gar aufgehoben, während die vorausgeschickte Teil-

Tabelle 6. Tachyphylaxie nach unterschwelligen Dosen von Isolobinin (Einschleichversuche).

Vordosis mg/kg	Injektionszahl	Nachdosierung mg/kg	Maximale Wirkung
0,01	1	0,4	± + +
0,03	1	0,4	— — ±
0,03	6	0,4	— —
0,05	1	0,4	± ± ±(+)
0,05	2	0,4	— — ± + ±
0,05	3	0,4	± ±
0,05	4	0,4	— —
0,05	5	0,4	— —
0,1	1	0,5	—
0,1	2	0,5	—
0,1	3	0,5	—
0,1	4	0,5	— — — — — — — —

dosis entweder nur geringe oder gar keine Erscheinungen zur Folge hatte* (Tabelle 7).

Tabelle 7. Tachyphylaxie nach unterschwelligen Dosen von Nikotin (Einschleichversuche).

Vordosis mg/kg	Wirkung	Nachdosierung mg/kg	Maximale Wirkung
0,3	alle —	2,5	± ±
0,3	alle —	3,0	± + +
0,4	± ± ± ±	2,5	± ± ±
0,6	±	2,5	±
0,6	alle —	3,0	±(+)+ +
0,9	alle —	3,0	(+)+ +
1,0	±	3,0	±

7. Tachyphylaktisches Verhalten bei anderen Tierarten.

Alle bisher besprochenen Versuche sind an der Ratte durchgeführt worden. Da der Vergiftungsverlauf bei anderen Tierarten nach den Erfahrungen von Richter und den Befunden in der vorausgehenden Arbeit nicht der gleiche wie bei der Ratte ist, war auch zu prüfen, ob bei anderen Tieren Isolobinin bzw. Nikotin tachyphylaktische Reaktionen bieten.

Beim Frosch ist die Vergiftung durch Isolobinin hauptsächlich durch eine Lähmung gekennzeichnet, deren Mechanismus wohl in der Hauptsache curarinartig ist. In den für diese Lähmung erforderlichen Dosierungen wurde auch keine Pagodenstellung beobachtet. Wiederholte Gaben lösten das gleiche Bild ohne Abschwächung aus. Auch Kaulquappen kann man beliebig oft lähmen, wenn man sie in Isolobinin- oder Nikotinlösungen (1 : 30000 und schwächer) bringt und sie sich zwischendurch in Wasser erholen läßt.

Bei Katzen fehlen nach Injektion toxischer Dosen von Isolobinin die für die Ratte typische Apnoe und Krampferscheinungen. Es stellen sich vielmehr auch nach mäßigen Gaben (1—2 mg/kg) Erregung der Atmung, Zucken der Ohren, motorische Unruhe, dann Aufhebung der Stellreflexe, unter Umständen auch Erbrechen ein. Die Erholung erfolgt innerhalb einer Stunde. Bei erneuter Verabreichung der gleichen Dosis Isolobinin bleiben diese Erscheinungen fast vollkommen aus, auch die Aufhebung der Stellretlexe. Es besteht also auch hier eine Tachyphylaxie. Werden größere toxische Gaben verabreicht, die zu einer vollen Lähmung aller Reflexe sowie auch der Atmung führen, so tritt bei Nachinjektion auch kleinerer Teildosen vor Erholung eine Verstärkung der Vergiftung auf.

Auch beim Kaninchen bestehen bestimmte Abweichungen des Vergiftungsverlaufes gegenüber der Ratte. Die toxischen Dosen des Isolobinins liegen wesentlich höher (5—8 mg/kg intramuskulär). Danach erfolgt keine spastische Apnoe und Krämpfe erst nach den höheren Dosen. Geringere Dosen führen zu starker Atmungserregung, auch Dyspnoe mit Cyanose und Schwäche der Extremitäten, so daß die Tiere in flacher Bauchlage liegen bleiben (nicht Seitenlage, also keine Aufhebung der Stellreflexe). Die Erholung erfolgte innerhalb von 60 Min. weitgehend. Nach Reinjektion der gleichen Dosis konnte in 4 von 6 Fällen, wo die erste Injektion

* Wenn man in diesen Nikotinversuchen einheitlich 2,5 mg/kg Nikotin als Reinjektion gegeben hätte, statt der verhältnismäßig hohen Dosis von 3 mg/kg bei einigen Versuchen, dann würde sich das Versuchsergebnis wahrscheinlich noch günstiger gestaltet haben.

Krämpfe ausgelöst hatte, eine sichere Tachyphylaxie nachgewiesen werden. Bei geringerer Dosierung ohne Krampfwirkung war die Tachyphylaxie nicht sicher oder nur in einzelnen Fällen erkennbar.

Zusammenfassung.

Isolobinin und Nikotin bewirkten bei der Ratte schwere zentralnervöse Erregungserscheinungen (spastische Apnoe und Krämpfe) mit folgender Tachyphylaxie. Die toxische Grenzdosis von Isolobinin (0,3 mg pro kg) liegt wesentlich niedriger als die des Nikotins (2—2,5 mg/kg). Die Dauer der Tachyphylaxie beträgt nach Injektion der doppelten Krampfdosis von Isolobinin etwa 2—3 Stunden. Isolobinin und Nikotin erzeugen eine wechselseitige Tachyphylaxie.

Arecolin, Apokodein und Cardiazol bewirken trotz chemischer bzw. pharmakologischer Verwandtschaft keine Tachyphylaxie untereinander oder gegen Isolobinin. Die tachyphylaktischen Erscheinungen nach Isolobininjektionen lassen sich nicht verhindern, wenn die Erregungserscheinungen bei der Erstinjektion durch Äthernarkosen unterdrückt werden. Morphin verstärkte die Krampferregung nach Isolobinin. Auch Atropin und Ergotamin können nicht hemmend in den tachyphylaktischen Ablauf eingreifen.

$^1/_6$—$^1/_{10}$ der wirksamen Grenzdosis von Isolobinin oder eine etwas höhere Teildosis von Nikotin setzten, ohne selbst stärkere Erregungswirkungen auszuüben, eine volle Tachyphylaxie für krampferzeugende Dosen. Es gelingt also durch eine solche „einschleichende" Vorbehandlung die Krampfwirkung der beiden Stoffe zu verhüten.

Bei anderen Tierarten ist der Vergiftungsverlauf zum Teil abweichend. Bei Fröschen und Kaulquappen, bei denen lähmende Eigenschaften das Wirkungsbild beherrschten, ist keine Tachyphylaxie festzustellen. Kaninchen und Katzen zeigen zwar auch ein tachyphylaktisches Verhalten, aber in geringerer Ausprägung als bei der Ratte.

Eine Erklärung der tachyphylaktischen Erscheinungen am Zentralnervensystem läßt sich aus den Versuchen nicht genügend ableiten. Offenbar besteht für viele „ganglionär-wirksamen" Stoffe die Gemeinsamkeit, daß sie auch zentrale Erregungserscheinungen unter Erzeugung von Tachyphylaxie veranlassen können. Apokodein allerdings, welches ebenfalls als ganglionäres Gift gilt, ließ keine tachyphylaktischen Reaktionen dieser Art erkennen.

Die Tachyphylaxie nach Nikotin und Isolobinin kann nicht aus einer einfachen Lähmung der betroffenen Nervenzellen erklärt werden, wie sie am Ganglion zervicale superius durch die gleichen Pharmaka nach vorausgehender Erregung erzeugt werden kann. Denn an Stelle der während der Tachyphylaxieperiode zu erwartenden Lähmungszeichen tritt eine scheinbar vollständige Erholung ein.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Studien über Methämoglobinbildung.

XXII. Mitteilung: Vergiftung von Meerschweinchen mit m-Dinitrobenzol*.

Von

Günther Kunz.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 18. März 1942.)

I.

Die gewerbliche Vergiftung mit Dinitrobenzol besitzt schon lange praktische Bedeutung (1). Für diese kommt von den 3 Isomeren im wesentlichen das m-Dinitrobenzol in Frage. Ihre hauptsächlichen Symptome sind: Cyanose, Anämie, degenerative Veränderung der roten Blutkörperchen (Heinzsche Körperchen), schließlich Ikterus.

In Tierversuchen zeigten sich je nach der Tierart merkliche Unterschiede innerhalb des Vergiftungsbildes, namentlich zwischen Fleisch- und Pflanzenfressern. Als billiges Versuchstier für Reihenuntersuchungen größeren Umfangs wäre das Meerschweinchen recht geeignet. Daher unternahm ich Untersuchungen über den Ablauf der Vergiftung mit m-Dinitrobenzol bei dieser Tierart. Dazu mußten zunächst einige ergänzende Vorversuche über die Rückbildung des Methämoglobins unternommen werden [vgl. Jung (2) und Gelinsky (3)].

II. Methodik.

a) Blutentnahme.

Die Blutentnahme erfolgte bei großen Tieren nach dem Vorschlag von Klieneberger (4) aus den Ohrenvenen, bei kleinen entweder durch Herzpunktion oder aus der freigelegten Halsvene.

b) Hämoglobinbestimmung.

0.2 ccm Blut wurden in 0,01 %iger Na-Citratlösung hämolysiert, 10 ccm Phosphatpuffer nach Sörensen ($p_H = 6{,}9$) zugesetzt, danach auf 100 ccm mit destilliertem Wasser aufgefüllt. Die Methämoglobin- und Hämoglobinbestimmung geschah nach Havemann, v. Issekutz und Jung (5). Diese Methode ist etwa fünfmal so genau wie die übliche Bestimmung nach Sahli. Auftretende Fehler beruhen im wesentlichen auf

* Herrn Prof. W. Heubner zum 65. Geburtstag. — D 11.

der ungenauen Abmessung des entnommenen Blutes. Da die Bestimmung des Hämoglobins — d. h. des gesamten Blutfarbstoffs — als Methämoglobin in derselben Probe erfolgte wie die des in vivo entstandenen Methämoglobins, lassen sich solche Ungenauigkeiten durch Angabe der Relativprozente ausgleichen.

c) Weitere Untersuchungen.

Bei den akuten und chronischen Vergiftungen wurde nach jeder Entnahme eine Vitalfärbung der Erythrocyten vorgenommen. Das Blut wurde auf einem mit Nilblausulfat versehenen Objektträger ausgestrichen, dann 10 Minuten in die feuchte Kammer gebracht und anschließend mit der Ölimmersion untersucht [Schilling (6)].

Herz, Lunge, Niere, Leber und Milz der chronisch vergifteten Meerschweinchen wurden nach dem Tode in 4%iges Formalin eingelegt und davon Gefrierschnitte angefertigt.

III. Rückbildungsversuche.

Das Meerschweinchen wurde zur Freilegung der Halsgefäße tief mit Äther narkotisiert. Je nach seiner Größe wurden 13—20 ccm Blut aus der Carotis entnommen. Zu diesem kam ein Überschuß einer 0,8%igen Natriumnitritlösung, die zur Vermeidung von Hämolyse noch 0,4% Kochsalz enthielt. Nach Braunfärbung wurden die Blutkörperchen abzentrifugiert, wiederholt mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen, mit dieser etwas aufgefüllt und dann demselben oder einem anderen Tier in die Halsvene infundiert. Nach vorhergegangener Methb.- und Hb.-Bestimmung wurde in Abständen von wenigen Minuten, entweder aus der Halsvene oder Carotis, über eine halbe Stunde und länger je 0,2 ccm Blut entnommen und darin Methb. und Hb. bestimmt [Jung (2) und Gelinsky (3)].

Versuche.

1) Meerschweinchen von 0,55 kg Gewicht. Entnahme von 15 ccm Blut aus der Carotis. Umwandlung in Methb., danach Infusion in die Halsvene.

Zeit Min. nach Infusion	Methämoglobin		Gesamthämoglobin	Zeit Min. nach Infusion	Methämoglobin		Gesamthämoglobin
	g%	Rel. %	g%		g%	Rel. %	g%
2	2,6	22,5	11,5	20	1,2	10,7	11,2
8	1,7	14,8	11,5	29	0,5	4,4	11,2
13	1,5	13,0	11,5	150	0.2	1,8	11,2

2) Meerschweinchen A von 0,70 kg Gewicht starb nach Entnahme von 15 ccm Blut.

Meerschweinchen B von 0,75 kg Gewicht. Entnahme von 20 ccm Blut. Ein Teil der gesamten Blutmenge aus beiden Tieren, etwa 20 ccm, wurde dem Tier B

nach Überführung in Methb. in die Halsvene infundiert. (Tot nach Ende des Versuchs.)

Zeit Min. nach Infusion	Methämoglobin		Gesamthämoglobin	Zeit Min. nach Infusion	Methämoglobin		Gesamthämoglobin
	g%	Rel. %	g%		g%	Rel. %	g%
2	2,3	17,7	13,0	22	1,7	14,4	11,8
9	2,1	17,8	11,8	26	1,0	8,5	11,8
16	1,7	14,4	11,8	30	0,7	6,1	11,4

3) Meerschweinchen 0,75 kg Gewicht. Entnahme von 20 ccm Blut. Infusion nach Umwandlung in Methb. in die Halsvene. (Tot nach Ende des Versuchs.)

Zeit Min. nach Infusion	Methämoglobin		Gesamthämoglobin	Zeit Min. nach Infusion	Methämoglobin		Gesamthämoglobin
	g%	Rel. %	g%		g%	Rel. %	g%
5	3,6	27,7	13,0	29	1,5	12,7	11,8
21	2,8	21,5	13,0	36	1,5	12,7	11,8
25	2,3	19,5	11,8	48	1,0	8,7	11,5

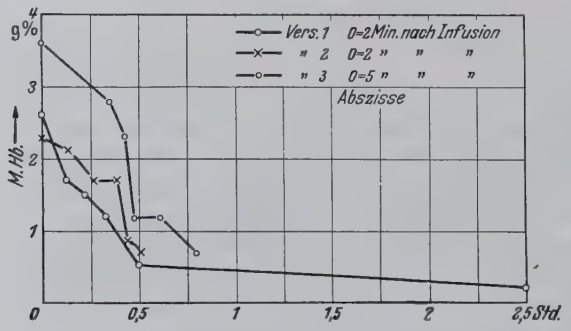


Abb. 1. Rückbildung des Methämoglobins nach Infusion gewaschener, methämoglobinhaltiger Blutkörperchen.

Aus diesen Versuchen läßt sich eine Halbwertszeit von 18—27 Minuten entnehmen (vgl. Kurven auf Abb. 1). Das Meerschweinchen bildet demnach Methämoglobin etwa ebenso schnell zurück wie das Kaninchen [Gelinsky (3)].

IV. Akute Vergiftung.

Auf Grund der Erfahrungen von Petersen (7) und Jung (8) mit dem in Wasser schwer löslichen Nitrosobenzol verabreichte ich in den Hauptversuchen das ebenfalls schwer lösliche Dinitrobenzol als 2 %ige Lösung in Mohnöl intraperitoneal.

Die bisher unbekannte Toxizität von m-Dinitrobenzol für das Meerschweinchen wurde in einigen Versuchen ermittelt, die auf Tabelle 1 zusammengestellt sind.

Es zeigte sich also, daß bei Giftmengen über 140 mg je kg die Meerschweinchen an akuter Vergiftung starben. Der Dosis von 100 mg/kg erlag das Tier nach 4 Tagen, wahrscheinlich an einer Spätschädigung.

Tabelle 1.

Versuch Nr.	Dosis mg/kg subcutan	Wirkung	Versuch Nr.	Dosis mg/kg subcutan	Wirkung
4	10	überlebt	8	140	tot nach 3 Stunden
5	20	„	9	180	„ „ 2 „
6	50	„	10	200	„ „ 2 „
7	100	tot nach 4 Tagen			

Zur Untersuchung des Ablaufs der akuten wie auch chronischen Vergiftung erschienen also Dosen zwischen 10 und 50 mg/kg als günstig. Mit ihnen wurden folgende Versuche ausgeführt.

11) Meerschweinchen 0,55 kg. 10 mg/kg Dinitrobenzol intraperitoneal. Blutentnahme aus dem Ohr.

Zeit nach Injektion	Methämoglobin		Gesamthämoglobin	Retikulocyten
	g%	% des Hb.	g%	%
0	0,2	1,5	12,75	1,8
30 min	3,2	25,0	12,75	1,6
65 „	2,3	18,0	12,75	1,6
90 „	2,0	15,7	12,75	1,4
2 h 5 „	0,8	6,5	12,25	1,5
3 h 15 „	0,6	4,9	12,25	1,6
6 h 55 „	0,2	1,6	12,0	1,6
30 h	0,6	5,3	11,3	1,5
3 d 7 h	0,2	1,9	10,5	2,0

12) 0,8 kg. 10 mg/kg intraperitoneal. Blutentnahme Herz und Ohr.

Zeit nach Injektion	Methämoglobin		Gesamthämoglobin	Retikulocyten
	g%	% des Hb.	g%	%
0	0,3	2,2	13,6	0,9
15 min	0,7	5,2	13,6	1,6
35 „	2,3	16,9	13,6	2,0
65 „	2,6	19,1	13,6	1,8
85 „	2,8	21,1	13,3	1,8
1 h 55 „	1,8	13,6	13,3	2,2
2 h 25 „	1,8	13,6	13,3	1,4
2 h 55 „	1,6	12,2	13,1	0,8
3 h 55 „	0,8	6,0	13,3	0,6
5 h 25 „	1,0	7,7	13,0	1,8
7 h 25 „	1,0	7,7	13,0	1,6
1 d 75 „	0,9	6,9	13,0	1,2

13) 0,54 kg. 20 mg/kg intraperitoneal. Blutentnahme Herz und Ohr.

Zeit nach Injektion	Methämoglobin		Gesamthämoglobin	Retikulocyten
	g%	% des Hb.	g%	%
0	0,3	1,8	16,7	2,2
60 min	5,0	32,2	15,5	2,0
1 h 50 „	4,3	31,6	13,6	1,5
2 h 25 „	4,3	31,8	13,5	1,8
3 h 30 „	2,7	20,3	13,3	1,4
6 h 20 „	1,7	13,0	13,0	1,2
8 h 35 „	0,1	0,9	11,3	1,4
1 d 3 h	0,7	6,9	10,1	2,6
4 d 5 h	0,7	6,9	10,1	7,4
6 d 7 h	0,3	3,6	8,2	2,9
10 d 4 h	0,1	0,9	11,6	—
17 d	0,1	0,8	12,5	2,4

14) 0,36 kg. 20 mg/kg intraperitoneal. Blutentnahme Ohr.

Zeit nach Injektion	Methämoglobin		Gesamthämoglobin	Retikulocyten
	g%	% des Hb.	g%	%
0	0,2	1,4	13,8	0,7
35 min	5,8	42,5	13,6	1,0
1 h 10 „	5,5	42,0	13,1	—
1 h 35 „	3,6	28,1	12,8	0,2
2 h 15 „	2,7	21,1	12,8	0,1
4 h 15 „	0,6	4,7	12,6	0,3
6 h 45 „	0,2	1,6	12,2	0,2
1 d 90 „	0,6	5,2	11,5	0,8
3 d 1 h	0,5	4,3	11,5	1,2
10 d	0,2	1,6	12,0	0,8

15) 0,43 kg. 30 mg/kg intraperitoneal. Blutentnahme Ohr und Halsvene (Tot nach Ende des Versuchs.)

Zeit nach Injektion	Methämoglobin		Gesamthämoglobin	Retikulocyten
	g%	% des Hb.	g%	%
0	0,5	3,3	15,0	4,5
1 h	3,0	20,0	15,0	3,2
1 h 45 min	4,0	28,1	14,2	1,8
2 h 45 „	2,7	19,8	13,6	4,2
3 h	2,7	18,0	15,0	4,0
4 h	2,0	13,3	15,0	—

16) 0,44 kg. 30 mg/kg intraperitoneal. Blutentnahme Ohr und Halsvene. (Tot nach 2 Tagen.)

Zeit nach Injektion	Methämoglobin		Gesamthämoglobin	Retikulocyten
	g%	% des Hb.	g%	%
0	0,2	1,3	15,0	3,3
15 min	2,0	13,3	15,0	4,3
40 „	2,7	19,8	13,6	3,0
1 h 15 „	3,6	31,3	11,5	2,0
1 h 35 „	3,8	33,0	11,5	2,7
2 h	3,1	25,5	12,2	3,0
2 h 40 „	2,3	19,8	11,6	4,0
5 h 40 „	2,3	17,7	13,0	4,5
1 d 4 h	0,5	4,9	10,1	4,7

17) 0,34 kg. 30 mg/kg intraperitoneal. Blutentnahme Ohr und Halsvene.

Zeit nach Injektion	Methämoglobin		Gesamthämoglobin	Retikulocyten
	g%	% des Hb.	g%	%
0	1,1	7,5	13,6	0,4
25 min	6,1	45,0	13,6	1,3
1 h	6,5	48,1	13,5	1,0
1 h 45 min	5,2	38,2	13,6	2,6
2 h 25 „	4,6	33,9	13,6	—
3 h 20 „	3,0	22,9	13,1	3,8
5 h 20 „	1,8	16,4	11,0	3,6
1 d	1,8	17,5	10,3	3,2
5 d	0,5	5,9	8,5	9,5
42 d	0,2	1,5	13,3	0,7

18) 0,19 kg. 30 mg/kg intraperitoneal. Blutentnahme Ohr.

Zeit nach Injektion	Methämoglobin		Gesamthämoglobin	Retikulocyten
	g%	% des Hb.	g%	%
0	0,1	0,5	12,8	1,4
40 min	4,6	36,0	12,8	2,2
1 h	2,8	21,9	12,8	2,2
1 h 30 min	1,0	7,9	12,7	2,4
2 h	0,8	6,4	12,5	2,2
3 h 15 „	0,8	6,4	12,5	2,2
7 h	0,6	4,9	12,2	1,6
3 d	0,2	1,9	10,1	2,1

19) 0,33 kg. 40 mg/kg intraperitoneal. Blutentnahme Ohr und Halsvene. (Tot nach 3 Stunden.)

Zeit nach Injektion	Methämoglobin		Gesamthämoglobin	Retikulocyten
	g%	% des Hb.	g%	%
0	0,2	1,3	14,5	1,0
35 min	5,5	40,0	13,8	1,3
1 h 20 „	3,3	24,3	13,6	1,2
2 h 15 „	0,8	5,9	13,6	1,5
2 h 55 „	0,5	3,6	13,6	1,5

20) 0,33 kg. 40 mg/kg intraperitoneal. Blutentnahme Ohr und Halsvene.

Zeit nach Injektion	Methämoglobin		Gesamthämoglobin	Retikulocyten
	g%	% des Hb.	%	%
0	0,5	3,9	12,8	0,5
45 min	5,1	41,0	12,2	0,9
1 h 10 „	5,1	42,1	12,1	—
1 h 35 „	4,1	37,4	11,0	1,0
2 h 30 „	3,1	29,8	10,5	1,0
4 h 30 „	2,8	27,7	10,1	1,6
5 h 45 „	1,5	17,3	8,7	2,4
8 h 30 „	1,5	16,3	9,2	3,0
2 d	0,6	6,4	9,3	2,6

21) 0,24 kg. 50 mg/kg intraperitoneal. Blutentnahme Halsvene. (Tot nach 4 Stunden.)

Zeit nach Injektion	Methämoglobin		Gesamthämoglobin	Retikulocyten
	g%	% des Hb.	g%	%
0	0,2	1,4	13,5	0,4
35 min	9,0	67,5	13,3	0,3
1 h 15 „	6,7	51,5	13,0	0,4
2 h 45 „	4,1	33,6	12,2	0,3
3 h 30 „	2,3	19,2	12,0	0,5

22) 0,3 kg. 50 mg/kg intraperitoneal. Blutentnahme Ohr. Vgl. Abb. 2.

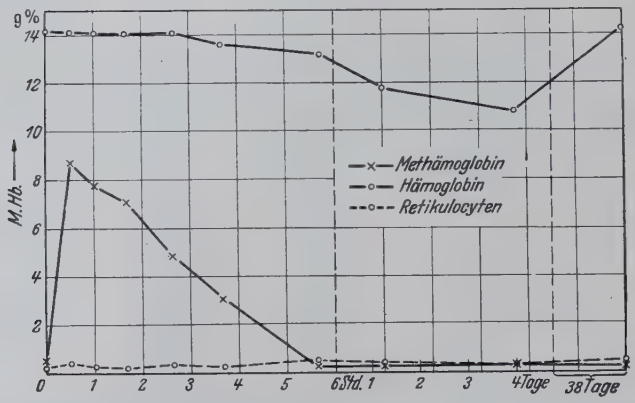


Abb. 2. Meerschweinchen Nr. 22. Beim Zeitpunkt *0* 50 mg Dinitrobenzol je kg intraperitoneal.

V. Chronische Vergiftung.

Im Gegensatz zur akuten Vergiftung, bei der der Ablauf der Methb.-Bildung im Vordergrund stand, waren für die chronischen Versuche die länger dauernden Veränderungen wesentlich, wie sie sich in der Abnahme des Blutfarbstoffs und der Vermehrung der Retikulocyten äußerten; ferner wurde stets auf Heinz-Körperbildung gefahndet (wenn auch durchaus ohne Erfolg, vgl. unten S. 519). Da die Resorptionsgeschwindigkeit hier von untergeordneter Bedeutung war, habe ich das m-Dinitrobenzol subcutan gegeben.

Versuche.

23) Meerschweinchen 0,27 kg. Tägliche Injektion von 10 mg/kg Dinitrobenzol subcutan. Blutentnahme Ohr.

Zeit nach Beginn der Injektion in Tagen:	0	2	4	6	8	10
Gesamthämoglobin, g%	15,6	13,5	14,2	13,1	14,0	11,4
Retikulocyten, %	2,0	2,0	2,8	6,3	2,0	1,2

24) 0,3 kg. Täglich 15 mg/kg subcutan. Blutentnahme Ohr.

Zeit nach Beginn der Injektion in Tagen:	0	2	4	6	8
Gesamthämoglobin, g%	12,8	12,8	13,6	12,7	11,2
Retikulocyten, %	1,2	2,6	3,6	5,0	5,2

25) 0,27 kg. Täglich 15 mg/kg subcutan. Blutentnahme Herz und Ohr.

Zeit nach Beginn der Injektion in Tagen:	0	2	4	6	8
Gesamthämoglobin, g%	15,2	15,0	11,8	12,7	7,5
Retikulocyten, %	0,7	3,3	3,7	4,2	5,1

26) 0,27 kg. Täglich 20 mg/kg subcutan. Blutentnahme Ohr.

Zeit nach Beginn der Injektion in Tagen:	0	2	4
Gesamthämoglobin, g%	13,7	12,7	12,7
Retikulocyten, %	4,5	5,2	5,2

27) 0,27 kg. Täglich 20 mg/kg subcutan. Blutentnahme Ohr.

Zeit nach Beginn der Injektion in Tagen:	0	2	4	6
Gesamthämoglobin, g%	13,7	14,0	13,6	12,2
Retikulocyten, %	1,5	3,6	4.2	6,2

28) 0,26 kg. Täglich 30 mg/kg subcutan. Blutentnahme Ohr und Herz. Vgl. Abb. 3.

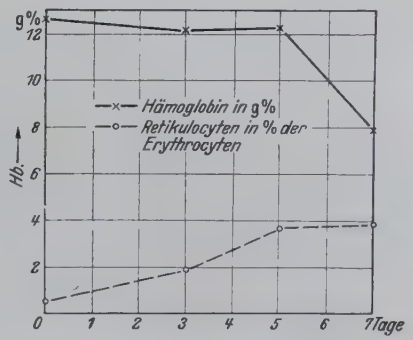


Abb. 3. Meerschweinchen Nr. 28 mit täglichen Dosen von 30 mg Dinitrobenzol je kg behandelt.

29) 0,25 kg. Täglich 30 mg/kg subcutan. Blutentnahme Ohr.

Zeit nach Beginn der Injektion in Tagen:	0	3	5	7
Hämoglobin, g%	12,1	15,6	14,6	3,5
Retikulocyten, %	0,3	2,3	2,7	—

30) 0,21 kg. Täglich 30 mg/kg subcutan. Blutentnahme Ohr und Herz.

Zeit nach Beginn der Injektion in Tagen:	0	2	4
Hämoglobin, g%	16,3	14,0	8,0
Retikulocyten, %	0,3	1,7	4.5

VI. Besprechung.

a) Akute Vergiftung.

Bei dieser steht, wie erwähnt, die Methämoglobin-Bildung im Vordergrund der Erscheinungen. Vor allem interessiert uns hier ihr zeitlicher Ablauf. Denn dieser ist es, der bei den bisher untersuchten Tierarten so große Unterschiede zeigt.

Das Meerschweinchen erreicht den Gipfelpunkt der Methämoglobin-Bildung in allen Fällen noch vor Ablauf der ersten 2 Stunden, es zeigt keine Niveaubildung und reduziert in wenigen Stunden den veränderten Blutfarbstoff wieder zu funktionstüchtigem Hämoglobin. Es meistert somit in kurzer Zeit dieses Vergiftungssymptom.

Zur Berechnung des umgesetzten Hämoglobins im Verhältnis zum verabreichten Dinitrobenzol wurde die Blutmenge jeweils schematisch zu 70 ccm je kg Körpergewicht gesetzt. Es ergaben sich die in Tabelle 2 verzeichneten Werte.

Rechenbeispiel (Versuch 16).

1. Verabreichte Dinitrobenzolmenge = 30 mg/kg

$$\frac{30}{168} \cdot 10^{-3}\ \text{Mol/kg} = 1{,}79 \cdot 10^{-4}\ \text{Mol/kg}.$$

2. Maximaler Methb.-Gehalt des Blutes 3,8%. Vorheriger Normalwert des Methb. 0,2%, also durch das Gift erzeugt 3,6%.

$$\text{Methb.} = \frac{70 \cdot 3{,}6}{100 \cdot 16\,800}\ \text{Val/kg} = 1{,}50 \cdot 10^{-4}\ \text{Val/kg}.$$

Da zufällig das Molekulargewicht des Dinitrobenzols und ein Hundertstel des Äquivalentgewichtes des Hämoglobins den gleichen Wert 168 haben, läßt sich auch bequem nach der Formel rechnen $V = 7 \cdot \frac{b}{a}$, wobei V das Verhältnis des umgesetzten Blutfarbstoffs zur angewandten Dosis, a) diese Dosis in mg je kg, b) Methämoglobin in Absolutprozenten bedeutet.

Tabelle 2.

Versuch Nr.	Mol Dinitrobenzol · 10^{-4}	Val Methämoglobin · 10^{-4}	Methämoglobin / Dinitrobenzol
11	0,60	1,3	2,1
12	0,60	1,1	1,8
13	1,17	2,0	1,7
14	1,17	2,3	2,0
15	1,79	1,5	0,8
16	1,79	1,5	0,8
17	1,79	2,3	1,3
18	1,79	1,9	1,0
19	2,38	2,2	0,9
20	2,38	1,9	0,8
21	2,98	3,7	1,2
22	2,98	3,4	1,1
			1,5

Aus der Tabelle geht ein Umsetzungsverhältnis von etwa 1,5 hervor. Auch bei den geringsten Dosen steigt es nicht über 2. Diese Werte liegen über, wenn auch nahe dem stöchiometrischen Verhältnis. Nach den Versuchen von Heubner und Lo Sing (9) vermag das Dinitrobenzol an Katzen ein Vielfaches an Hämoglobin umzuwandeln. Das abweichende Verhalten des Meerschweinchens erklärt sich leicht aus der besonders großen Rückbildungsgeschwindigkeit des Methämoglobins.

Die Beziehung zwischen verabreichter Dosis und Höhe der Methämoglobin-Bildung habe ich in Abb. 4 dargestellt. Eine einfache Dosiswirkungskurve läßt sich nicht ablesen. Von 0—20 mg/kg zeigt sich ein linearer Anstieg der Wirkung mit der Dosis, zwischen 20 und 40 mg/kg eine ziemliche Konstanz derselben (Plateaubildung), zwischen 40 und 50 mg/kg dagegen wiederum ein sehr starkes Ansteigen. Dieses Ergebnis, das zunächst merkwürdig anmutet, ist nicht so überraschend, da sowohl Schwedtke (10) wie v. Issekutz (11) und Petersen (7) dasselbe Verhalten am Anilin, den Dinitrobenzolen und Nitrosobenzol nachwiesen. Eine Erklärung für diese Erscheinung kann man bis heute noch nicht geben.

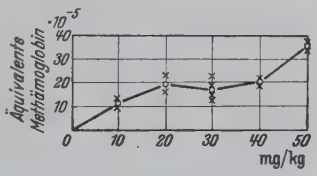


Abb. 4. Dosiswirkungskurve für Dinitobenzol.

Einen Vergleich der maximalen Methämoglobin-Bildung bei den Dosen von 10 mg/kg und 30 mg/kg Dinitrobenzol bei verschiedenen Tierarten habe ich in Tabelle 3 aufgestellt. Die Werte für Hund und Kaninchen verdanke ich den Herren Dr. Kiese und Dr. Jung aus dem Pharmakologischen Institut Berlin.

Tabelle 3.

Dosis mg/kg	Tierart	Methämoglobin-Maximum vom Gesamthämoglobin %
10	Meerschweinchen	21—25
10	Hund	38—65
10	Katze (10)	60—80
30	Kaninchen	30—40
30	Meerschweinchen	36—48

Die Tiere ordnen sich nach ihrer Empfindlichkeit in der Reihenfolge: Kaninchen < Meerschweinchen < Hund < Katze.

Der Hämoglobin-Gehalt des Blutes nimmt während der akuten Versuche infolge der Entnahme etwas ab. Eine später noch folgende weitere Verminderung des Hämoglobins ist möglicherweise dem Dinitrobenzol zuzuschreiben.

Bei den akut und chronisch vergifteten Tieren treten Vermehrungen der Retikulocyten auf. Pflanzenfresser reagieren jedoch an sich außer-

ordentlich leicht in dieser Weise. Eine Entscheidung, ob das Dinitrobenzol oder die Blutentnahmen oder eine etwaige Infektion die Ursache sind, kann ich nicht treffen. Verständlicherweise hat der Grad der Anämie einen Einfluß auf die Zahl der Retikulocyten (s. Tabelle 4).

Tabelle 4.

Versuch Nr.	Hämoglobinverlust %	Retikulocyten vorher %	Retikulocyten nachher %	Differenz
12	5	0,9	1,2	+ 0,3
19	7	1,0	1,5	+ 0,5
15	10	4,5	4,2	— 0,3
21	12	0,4	0,5	+ 0,1
14	17	0,7	1,2	+ 0,5
11	18	1,8	2,0	+ 0,2
18	22	1,4	2,1	+ 0,7
22	24	0,2	0,2	—
16	33	3,3	4,7	+ 1,4
20	34	0,5	2,4	+ 1,9
17	38	0,4	0,5	+ 0,1
13	51	2,2	2,9	+ 0,7

Als weiteres Charakteristikum der akuten oder chronischen Vergiftung mit Dinitrobenzol (und anderen aromatischen Stickstoffverbindungen) finden sich bei verschiedenen Tierarten Veränderungen an den Erythrocyten, die in der Literatur die Bezeichnung „Heinzsche Körperchen" tragen. Sie wurden zuerst von dem Pharmakologen R. Heinz bei der Vergiftung der Kaninchen mit Phenylhydrazin entdeckt und beschrieben, konnten dann auch von späteren Autoren beobachtet werden [vgl. Heubner (12)].

Heinz beschreibt diese Produkte als stark lichtbrechende Kugeln, die den Blutkörperchen meist knopfförmig aufsitzen. Die so beginnende Veränderung kann möglicherweise bis zur völligen Zerstörung des Erythrocyten weiterschreiten und damit zur Anämie führen. Ein besonders günstiges Tier zur Erzeugung von Heinz-Körperchen ist das Kaninchen, das sich als Nagetier dem Meerschweinchen vielfach ziemlich ähnlich verhält. Es lag nun nahe, eine beträchtliche Bildung solcher „Innenkörperchen" auch von diesem Versuchstier zu erwarten. Überraschenderweise verhielt sich das Meerschweinchen in dieser Hinsicht absolut resistent. Weder die akute noch die chronische Vergiftung erzeugte in den Erythrocyten diese Gebilde. In keinem der vielen angefertigten Präparate konnte ich Heinz-Körperchen erblicken, obwohl die Retikulocyten stets einwandfrei gefärbt waren. Heinz dagegen hatte nach Vergiftung mit Phenylhydrazin auch beim Meerschweinchen seine Körper gesehen.

b) Chronische Vergiftung.

Wenn schon die akute Intoxikation zur Abnahme des Hämoglobins im Blute führt, so ist bei der chronischen Vergiftung eine noch schwerere Anämie vorauszusehen. Dies ließ sich jedoch nicht im erwarteten Umfang

bestätigen. Zwar zeigte sich eine Hämoglobin-Verminderung, doch erschwerte eine starke individuelle Variation die Beurteilung.

Immerhin stand die Schwere der Anämie in einer gewissen Beziehung zur Dosis: die größte Dosis rief auch die stärkste Anämie hervor (s. Tabelle 5).

Tabelle 5.

Versuch Nr.	Dosis mg/kg	Hämoglobin-verminderung %	Lebens-dauer in Tagen	Versuch Nr.	Dosis mg/kg	Hämoglobin-verminderung %	Lebens-dauer in Tagen
23	10	22	13	27	20	1	5
24	15	1	13	28	30	35	7
25	15	50	10	29	30	71	7
26	20	1	8	30	30	51	5

Bei 30 mg/kg Dinitrobenzol verminderte sich der Hämoglobin-Gehalt im Durchschnitt um 52%.

Bei allen Tieren, die mit einer erheblichen Anämie reagierten, entwickelte sich diese im Anfang nur langsam; ganz plötzlich erfolgte dann ein akuter Absturz des Hämoglobins, den wir als Ausdruck der erschöpften Widerstandskraft auffassen können. Wahrscheinlich spielt bei dem Entstehen der Anämie der Allgemeinzustand des Tieres eine erhebliche Rolle.

Die Retikulocyten nehmen im Laufe der chronischen Vergiftung an Zahl stetig zu. Nun sehen aber bei Hund wie Ratte (wie mir Dr. Kiese und Dr. Jung mitteilten) die Retikulocyten den Heinz-Körperchen sehr ähnlich, so daß in manchen Fällen die Deutung der Bilder große Schwierigkeiten machte. Möglicherweise sind daher die von mir beobachteten Zellen keine echten Retikulocyten, sondern eine den Heinz-Körperchen analoge Veränderung der Erythrocyten.

Deutlich waren die Beziehungen der Lebensdauer der vergifteten Tiere zur angewandten Dosis (vgl. Tabelle 5).

Auch die äußere Erscheinung änderte sich bei der chronischen Vergiftung. Schon nach wenigen Injektionen kam es zu einer deutlichen Bewegungseinschränkung. Das glatte und glänzende Fell des gesunden Tieres wurde struppig und stumpf. Vor dem Tode zeigte sich eine frequente und mühsame Atmung. Nervöse Symptome konnte ich nicht beobachten.

Die histologische Untersuchung der parenchymatösen Organe aller chronisch vergifteten Tiere ergab nur sehr wenig charakteristische Erscheinungen. Das Organ, welches am meisten durch das Gift geschädigt zu werden schien, war die Lunge. Sie zeigte bei allen Tieren ein schweres Ödem, starke akute Stauungserscheinungen und Hypostase. Diese Schädigung dürfte jedoch nur eine sekundäre sein. Mit hoher Wahrscheinlichkeit ist anzunehmen, daß alle Lungenveränderungen die Folge eines Versagens des Herzens darstellten. Diese Annahme wird durch die Sektionsergebnisse unterstützt, die regelmäßig starke Stauungserscheinungen im venösen Kreislaufgebiet ergaben; das histologische Bild des Herzens selbst war nicht verändert.

Die Leber zeigte bei 2 Tieren eine nicht sehr ausgesprochene großtropfige Verfettung — bei dem einen Meerschweinchen zentral, bei dem anderen mehr diffus. Außerdem ließ sich lediglich eine geringe Hämosiderose feststellen.

Bei der Milz trat diese stark hervor. Das Hämosiderin lag in großen blasigen Zellen in einem auffallend zellarmen Organ, das blutüberfüllt erschien. (Die gesunde Milz verhält sich gerade umgekehrt.)

An der Niere konnte ich außer einer starken Füllung der Gefäße nichts Pathologisches sehen.

Zusammenfassung.

Meerschweinchen wurden mit m-Dinitrobenzol akut und chronisch vergiftet. Die akut tödliche Dosis liegt um 100 mg/kg.

Das Hauptsymptom der akuten Vergiftung ist eine schnell vorübergehende Methämoglobin-Bildung. Dieser folgt eine deutliche Anämie. Die auftretende Retikulocytenvermehrung ist meist gering, nur in Fällen hochgradiger Anämie deutlicher.

Auch die chronische Vergiftung führt zu einer Anämie. Sie entwickelt sich erst langsam, bis plötzlich ein akuter Absturz des Hämoglobins einsetzt, worauf der Tod des Tieres folgt. Vermehrung der Retikulocyten konnte regelmäßig gesehen werden. Die Todesursache ist wahrscheinlich eine Herzinsuffizienz. Zwischen Lebensdauer und Dosis besteht ein ziemlich festes umgekehrtes Verhältnis.

Weder bei der akuten noch bei der chronischen Vergiftung konnten Heinz-Körperchen beobachtet werden; freilich bleibt es denkbar, daß ein Teil der als „Retikulocyten" erscheinenden Blutzellen Veränderungen erlitten haben, die ein Äquivalent von „Heinz-Körperchen" darstellen. Dennoch ist in der Erscheinungsform der Unterschied zwischen der Vergiftung am Menschen und dem Meerschweinchen verhältnismäßig groß.

Literatur.

1) Huber: Virchows Arch. **126**, 240 (1891); White and Hay: Lancet **1901**, II; Koelsch: Zbl. Gewerbehyg. **5**, 60 (1917); Hübner: Münch. med. Wschr. **65**, 1285 (1918); Hübner: Dtsch. med. Wschr. **45**, 1272 (1919); Cords: Zbl. Gewerbehyg. **7**, 6 (1919); Spinner: Dtsch. med. Wschr. **46**, 626 (1920); Stukowski: Ebenda **48**, 1377 (1922). — 2) Jung: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **192**, 464 (1939). — 3) Gelinsky: Ebenda **195**, 460 (1940). — 4) Klieneberger: Blutmorphologie der Laboratoriumstiere (1927). Verlag Joh. Ambrosius Barth. — 5) Havemann, v. Issekutz u. Jung: Biochem. Z. **301**, 116 (1939). — 6) Schilling: Das Blutbild und seine klinische Verwertung (1933). Verlag Fischer, Jena. — 7) Petersen: Naunyn-Schmiedebergs Arch., **198**, 675 (1941). — 8) Jung: Ebenda **195**, 208 (1940). — 9) Heubner u. Lo Sing: Ebenda **188**, 143 (1938). — 10) Schwedtke: Ebenda **188**, 121 (1938). — 11) v. Issekutz: Ebenda **193**, 551 (1939). — 12) Heubner: Klin. Wschr. **1940**, S. 328.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Kopenhagen.
(Chef: Prof. Dr. Knud O. Møller.)

Über den Übergang von Sulfathiazol, Sulfapyridin und Sulfamethylthiazol von der Mutter zum Fötus.

Von

A. Harrestrup Andersen und M. H. Simesen.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 18. März 1942.)

Mit der wachsenden Anwendung von Sulfonamiden in der Geburtshilfe zur Prophylaxe und Therapie erhält das Problem des Überganges dieser Stoffe von der Mutter zum Fötus besonderes Interesse.

Für Sulfanilamid ist in verschiedenen Untersuchungen nachgewiesen worden, daß dieser Stoff ohne Schwierigkeit durch die Placenta permeiert und im Blute der Mutter und des Fötus etwa in gleicher Konzentration vorhanden ist (Adair, Hesseltine und Hac[1]; Lee, Andersen und Chen[2]; Speert[3]; Digonnet[4]).

Soweit uns bekannt, liegen für die neueren Sulfonamide, die Sulfanilamid allmählich in der Therapie erstatten, keine entsprechenden Untersuchungen vor. Man kann nicht von vornherein entscheiden, wie die Verbindungen Sulfapyridin, Sulfathiazol und Sulfamethylthiazol sich verhalten werden. Ebenso wie das Sulfanilamid ist die Verteilung dieser Stoffe fast im ganzen Organismus annähernd gleichartig (Simesen)[5]. Während Sulfanilamid im Blute in größerer Konzentration in den Erythrocyten als im Plasma auftritt (Size[6], Simesen[7]), findet sich Sulfapyridin in gleicher Konzentration im Plasma und in den Erythrocyten und Sulfathiazol in größerer Konzentration im Plasma als in den Erythrocyten (Simesen[7]). Die Konzentration von Sulfanilamid ist im Liquor und im Gesamtblut die gleiche, wohingegen Sulfapyridin in geringeren Konzentrationen im Liquor als im Gesamtblut auftritt und Sulfathiazol im Liquor nur etwa $^1/_5$ der Konzentration im Blute hat (Roelsen und Simesen[8]).

In der vorliegenden Arbeit wurde die Permeierung von Sulfapyridin, Sulfathiazol und Sulfamethylthiazol durch die Placenta untersucht.

[1] Adair, F. L., H. C. Hesseltine u. L. R. Hac: J. amer. med. Assoc. **111**, 766 (1938). — [2] Lee, H. M., R. C. Andersen u. K. K. Chen: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **38**, 366 (1938). — [3] Speert, M.: Bull. Johns Hopkins Hosp. **63**, 337 (1938). — [4] Digonnet, L.: C. r. Soc. Biol. **130**, 1085 (1939). — [5] Simesen, M. H.: Noch nicht veröffentlicht. — [6] Size, H. L.: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **40**, 451 (1939). — [7] Simesen: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, 12 (1940). — [8] Roelsen, E., u. M. H. Simesen: Nord. Med. **13**, 87 (1942).

Bei Untersuchung der Permeabilität der Placenta für einen bestimmten Stoff wäre die Bestimmung der Konzentrationskurve sowohl im Blute der Mutter als auch in dem des Fötus wünschenswert. Dieses ist jedoch praktisch nicht durchführbar. Man kann aber befriedigende Resultate mit der von E. Brandstrup[9] angegebenen Methode erhalten, nach der von dem gleichen Muttertier nacheinander verschiedene Föten entfernt werden, und im Fötalblut und in gleichzeitig entnommenen Blutproben des Muttertieres die Konzentration des betreffenden Stoffes bestimmt wird.

Methodik.

Kaninchen wurden als die am besten geeigneten Versuchstiere angewendet, da einerseits gravide Kaninchen eine große Zahl von Föten tragen und andererseits die Kaninchenplacenta histologisch der menschlichen Placenta sehr ähnlich ist.

Zu den Versuchen dienten Tiere mit wohlentwickelten, lebenstüchtigen Föten unmittelbar vor der Geburt. Nach 24stündigem Fasten wurde dem Tier eine Lösung des betreffenden Sulfonamids (20 cg pro kg) durch die Magensonde eingegeben. Das Tier lag dann in einem Wärmeschrank bei 30°, und mit einstündigen Intervallen wurden Blutproben von 2—3 ml aus der Ohrvene entnommen. Als gerinnungsverhindernden Stoff benutzten wir eine geringe Menge Liquoid Roche. In Urethannarkose wurde das Tier dann auf einem vorgewärmten Operationstisch angebracht, und die Bauchhöhle unter Vermeidung von Blutungen von seiten der Milchdrüsen und der Muskeln genau in der Mittellinie eröffnet. Das kraniale Ende von einem der Uterushorne wurde schnell und mit möglichst wenig Manipulationen, um die Auslösung von Wehen zu vermeiden, aufgesucht. Mit einer spitzen Pinzette setzte man dann parallel mit den Gefäßen einen kleinen Riß in die Uterusmuskulatur, durch den ein Fötus herausgenommen wurde. Oberhalb des nächsten Fötus wurde ein Péan angebracht und die Bauchhöhle provisorisch mit Klemmen geschlossen. Nachdem man sich vergewissert hatte, daß der Fötus lebte, und nachdem die Fötalflüssigkeit sorgfältig entfernt worden war, wurde der Fötus dekapitiert und das aus den Halsgefäßen strömende Blut in einem kleinen Reagensglas gesammelt. Annähernd gleichzeitig wurde eine Blutprobe von dem Muttertier genommen. Im allgemeinen entfernte man den ersten Fötus gleichzeitig mit der dritten Blutprobe, d. h. 3 Stunden nach der Eingabe des Sulfonamids. Ein oder mehrere Föten wurden dann mit einstündigem Zwischenraum herausgenommen, bis das Muttertier zu geschädigt für eine weitere Fortsetzung des Versuchs war, was in der Regel nach der Entfernung der dritten Serie Föten der Fall gewesen ist. Das Muttertier wurde dann getötet und Proben von der Muskulatur, dem Unterhautgewebe und anderen Geweben, sowie den im Muttertier verbliebenen Föten entnommen. Die Sulfonamidkonzentration bestimmten wir außer im Blute der Mutter und im Fötalblut auch in der zu jedem herausgenommenen Fötus gehörigen Placenta, in den vom Muttertier genommenen Gewebsproben und endlich bei den im Muttertier verbliebenen Föten. Zur Konzentrationsbestimmung in den Föten wurden diese fein zerteilt und eine Probe analysiert.

Die herausgenommenen Föten waren im allgemeinen 7—11 cm lang. In einem einzelnen Versuch, in dem die Föten zu klein waren, um eine genügend große Blutmenge zur Analyse zu geben, wurde anstatt dessen der ganze Fötus analysiert.

[9] Brandstrup, E.: Acta obstetr. Scand. **10**, 251 (1930).

Wenn eine Konzentrationskurve aus Blutproben von verschiedenen Föten als Maß für die Permeabilität der Placenta benutzt werden soll, ist eine notwendige Voraussetzung, daß die Sulfonamidkonzentration zur gleichen Zeit in allen Föten des betreffenden Tieres die gleiche ist. In allen Fällen, wo die Anzahl es gestattete, wurden daher zwei Föten gleichzeitig entfernt und von jedem Fötus eine Blutprobe analysiert. Die Sulfonamidkonzentration zeigte in derartigen Versuchen niemals größere Abweichungen, als durch Versuchs- und Analysenfehler erklärt werden könnten.

Die Sulfonamidkonzentration wurde nach der von Hecht[10] angegebenen Modifikation der Methode von Marshall bestimmt, wie sie bei Simesen[7] beschrieben ist.

Insgesamt wurden 10 Versuche vorgenommen, 2 mit Eingabe von Sulfapyridin, 3 mit Sulfamethylthiazol und 5 mit Sulfathiazol. Da die Versuche innerhalb der verschiedenen Gruppen annähernd gute Übereinstimmung aufwiesen, wird jeweils ein Versuch von jeder Gruppe als Beispiel angeführt (Tabelle 1—3). Abb. 1 und Tabelle 1 zeigen das Verhalten nach Sulfapyridineingabe.

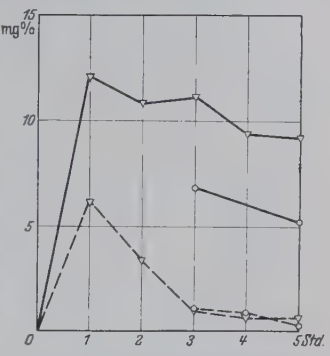


Abb. 1. Konzentration des Sulfapyridins im Blute des Muttertieres (▽) und im Fötalblut (○) —— = Gesamtmenge, – – – = frei vorhandenes Sulfapyridin. Abszisse: Zeit in Stunden; Ordinate: im Blute vorhandene Sulfapyridinmenge in mg%.

Die Gesamtsulfapyridinkonzentration ist im Fötalblut etwa $^3/_5$ der Konzentration im Blute des Muttertieres. Die Konzentration in der Placenta und im Blute des Fötus ist die gleiche. Die Konzentration des Sulfapyridins im ganzen Fötus ist etwa die

Tabelle 1. Kaninchen, 3,6 kg; 20 cg/1 kg Sulfapyridin per os. Föten etwa 10 cm.

Gefundenes Sulfapyridin in mg/100 g										
in	1		2		3		4		5 Stunden nach der Eingabe	
	frei	total	frei	total	frei	total	frei	total	frei	total
Blut (Muttertier)	6,2	12,1	3,3	10,8	1,0	11,1	0,7	9,4	0,7	9,2
„ (Fötus I).....					1,2	6,8	0,9		0,4	5,2
Placenta (Fötus I) ...					2,3	6,8	0,9	5,6	0,7	5,6
Blut (Fötus II).....					2,3	6,7	0,9	5,4	0,3	5,4
Placenta (Fötus II) ..					1,5	7,0	0,8	5,6	0,8	5,9
Gesamter Fötus									0,4	2,5
Leber (Muttertier)...									0,8	7,7
Muskel „ ...									0,5	6,0
Gehirn „ ...									0,2	2,0
Unterhautgewebe „ .									0,6	6,3

[10] Hecht, G.: Derm. Wschr. **106**, 261 (1938).

Hälfte der Konzentration im Fötalblut. In den verschiedenen Geweben des Muttertieres schwankt die Sulfapyridinkonzentration, sie ist aber in allen Fällen niedriger als die Konzentration im Blute. Im Gehirn findet sich die niedrigste Konzentration. Die Werte für das frei vorhandene Sulfapyridin deuten auf eine gleiche Verteilung zwischen Muttertier und Föten, allerdings sind die Analysenresultate hier wegen der geringen Konzentrationen, in denen die freien Verbindungen im Kaninchenorganismus vorkommen, unsicher. Da die Konzentration im Fötalblut sich parallel mit der im Blute des Muttertieres ändert, kann die niedrige Konzentration im Fötus nicht nur durch eine Verzögerung des Überganges verursacht sein.

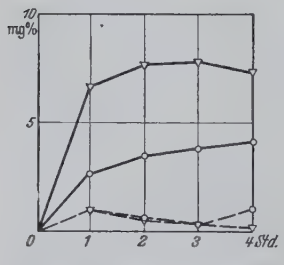


Abb. 2. Konzentration des Sulfamethylthiazols im Blute des Muttertieres (▽) und im Fötalblut (○). — = Gesamtsulfamethylthiazol; — — — = freies Sulfamethylthiazol. Abszisse: Zeit in Stunden; Ordinate: im Blute vorhandene Sulfamethylthiazolmenge in mg%.

Tabelle 2 und Abb. 2 zeigen das Verhalten der Konzentration im Fötalblut und im Blute des Muttertieres nach Eingabe von Sulfamethylthiazol.

Die Konzentration der gesamten Sulfamethylthiazolverbindung beträgt im Blute des Fötus etwa $^2/_5$ der Konzentration im mütterlichen Blute. In der Placenta und im Blute des Fötus ist die Konzentration etwa die gleiche. Auch für diese Verbindung ist die Konzentration im gesamten Fötus etwa die Hälfte der im Fötalblut vorhandenen.

Bei normalen und stark zyanotischen Föten wurde kein Unterschied in den Konzentrationen, mit denen die Sulfonamidverbindungen auftreten, gefunden. Auch für Sulfamethylthiazol gilt, daß die Konzentrationen in den ver-

Tabelle 2. Kaninchen, Gewicht 3,5 kg; 20 cg/1 kg Sulfamethylthiazol per os; Föten etwa 8 cm.

in	Gefundenes Sulfamethylthiazol in mg/100 g									
	1		2		3		4		5 Stunden nach der Eingabe	
	frei	total	frei	total	frei	total	frei	total	frei	total
Blut (Muttertier)	1,0	6,7	0,5	7,7	0,3	7,8	0,2	7,3		
Blut (Fötus I)	1,0	2,7	0,6	3,5	0,3	3,8	1,0	4,1		
Placenta (Fötus I) ...	0,8	3,1	1,0	4,3	0,4	3,5	0,2	1,9		
Blut (Fötus II) *	1,0	2,8					0,2	3,7		
Placenta (Fötus II) *.	0,5	2,0					0,2	2,0		
Leber (Muttertier) ...							0,7	6,9		
Muskel „ ...							0,7	3,4		
Unterhautgewebe „ .							0,2	5,2		
Gesamter Fötus							0,4	2,3		
„ „ *...							0,3	2,2		

* zyanotisch

schiedenen Geweben des Muttertieres von gleicher Größenordnung sind, obwohl gewisse Schwankungen vorhanden sind. Die geringste Konzentration wurde im Gehirngewebe beobachtet. Die freie Sulfamethylthiazolverbindung scheint, ebenso wie die freie Sulfapyridinverbindung, im Blute des Muttertieres und im Fötalblut in gleicher Konzentration vorhanden zu sein. Allerdings sind die gefundenen Konzentrationen so gering, daß die Analysenresultate mit größerer Unsicherheit behaftet sind. Aus den Kurven der Abb. 2 ist ersichtlich, daß die Sulfamethylthiazolkonzentration im Blute des Muttertieres und im Blute des Fötus parallel verläuft. In dem als Beispiel angeführten Versuch wurde der erste Fötus 1 Stunde nach der Eingabe des Sulfamethylthiazols herausgenommen. Die übrigen Versuche, in denen der erste Fötus 3 Stunden nach Eingabe des Stoffes herausgenommen wurde, zeigten ein ganz entsprechendes Verhalten. Auch für diese Verbindung kann der Konzentrationsunterschied also nicht auf einer zeitlichen Verzögerung im Übergang der Verbindung von Muttertier zum Fötus beruhen.

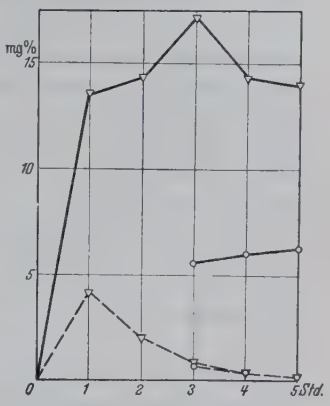


Abb. 3. Konzentration des Sulfathiazols im Blute des Muttertieres (▽) und im Fötalblut (○). ——— = Gesamtsulfathiazolkonzentration; — — — = freies Sulfathiazol. Abszisse: Zeit in Stunden; Ordinate: im Blute vorhandene Sulfathiazolmenge in mg%.

Während die Konzentrationsbestimmungen von Sulfapyridin und Sulfamethylthiazol eindeutige Resultate ergaben, war dies nicht ganz der Fall für die dritte von uns untersuchte Sulfonamidverbindung, das Sulfathiazol. In dem ersten Sulfathiazolversuch fanden wir annähernd die gleichen

Tabelle 3. Kaninchen, Gewicht 4,2 kg; 20 cg/1 kg Sulfathiazol per os; Föten etwa 10 cm.

	Gefundenes Sulfathiazol in mg/100 g									
in	1		2		3		4		5 Stunden nach der Eingabe	
	frei	total	frei	total	frei	total	frei	total	frei	total
Blut (Muttertier)	4,1	13,5	2,0	14,3	0,8	17,2	0,3	14,3	0,1	13,9
Blut (Fötus I)					0,7	5,5	0,3	5,9	0,1	6,2
Placenta (Fötus I)					1,1	8,9			0,8	8,6
Blut (Fötus II) *							0,3	7,4		
Placenta (Fötus II) *.							0,8	8,4		
Leber (Muttertier)									0,2	10,5
Muskel „									0	4,9
Gehirn „									0	0,2
Unterhautgewebe „									0,2	6,8
Gesamter Fötus *									0,3	4,7

* zyanotisch

Konzentrationen im mütterlichen und im fötalen Blut. In den weiteren 4 Versuchen betrug die Konzentration im Fötalblut dagegen nur $^1/_3$ der Konzentration, die im Blute des Muttertieres gefunden wurde. Die letzten erwähnten 4 Versuche zeigten größere Schwankungen der Resultate als die Sulfapyridin- und die Sulfamethylthiazolversuche. Der in Abb. 3 und in Tabelle 3 wiedergegebene Versuch entspricht jedoch im wesentlichen den anderen drei Versuchen dieser Gruppe.

Der Versuch zeigt, daß die Sulfathiazolkonzentration im Fötalblut etwa $^1/_3$ der Konzentration im mütterlichen Blute beträgt. Die Konzentration der Verbindung in der Placenta ist wahrscheinlich höher als die im fötalen Blute vorhandene, und der gesamte Fötus hat eine Sulfathiazolkonzentration, die etwa 70% der im Fötalblut vorhandenen ausmacht. Die Konzentration schwankt in den verschiedenen Geweben des Muttertieres, liegt aber am niedrigsten im Gehirn. Die freie Verbindung kommt auch hier anscheinend in gleicher Konzentration im Blute des Muttertieres und im Fötalblut vor, aber die Konzentrationen sind wiederum zu gering, um sichere Schlüsse zu erlauben. Alle Versuche zeigen, daß die Konzentration im mütterlichen Blute sich gleichsinnig mit der im Fötalblut vorhandenen ändert, obwohl für diese Verbindung die Parallelität weniger eindeutig ist als die für Sulfapyridin und für Sulfamethylthiazol gefundene.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Bei Betrachtung der Versuche unter einem gemeinsamen Gesichtspunkte kommt man zu folgenden Schlußfolgerungen:

Keine der drei Verbindungen findet sich in der gleichen Konzentration im Blute des Fötus und im Blute des Muttertieres. Sulfapyridin hat im Fötalblut etwa $^3/_5$. Sulfamethylthiazol etwa $^2/_5$ und Sulfathiazol ungefähr $^1/_3$ der Konzentration der im mütterlichen Blute vorhandenen Konzentration. Was das Verhalten der freien Verbindung anbetrifft, können aus den vorliegenden Versuchen wegen der beim Kaninchen auftretenden sehr großen Azetylierung der Sulfonamide keine sicheren Schlüsse gezogen werden. Die Versuche deuten aber darauf hin, daß die freie Verbindung leichter permeiert als die azetylierte.

Frühere Untersuchungen (Brandstrup[9], Schlossmann[11]) haben ergeben, daß die Placenta entweder vollständig permeabel oder aber impermeabel für die betreffenden Stoffe ist, was in Übereinstimmung mit der Auffassung steht, nach der die Permeierung der Stoffe durch die Placenta als eine rein passive Diffusion durch eine semipermeable Membran aufgefaßt werden muß, bei der es im wesentlichen die Molekülgröße der betreffenden Stoffe ist, die die Permeierung bestimmt. Monosaccharide mit einem Molekulargewicht von etwa 180 diffundieren z. B. leicht durch

[11] Schlossmann, H.: Der Stoffaustausch zwischen Mutter und Frucht durch die Placenta. Erg. Physiol. usw. **34** (1932).

die Membran der Placenta, während Disaccharide (Molekulargewicht 340) zurückgehalten werden.

Da das Molekulargewicht der hier untersuchten Stoffe von etwa gleicher Größenordnung und für alle geringer als 340 ist, kann dieses nicht erklären, warum Azetylsulfanilamid (Molekulargewicht 214) die Placenta leicht permeiert, während die übrigen Sulfonamide mehr oder weniger zurückgehalten werden. Acetylsulfapyridin (Molekulargewicht 291) hat z. B. eine doppelt so große Permeierungsfähigkeit wie Azetylsulfathiazol (Molekulargewicht 297). Hinzu kommt, daß der gefundene partielle Übergang in scheinbar direktem Gegensatz zur Annahme einer rein passiven Diffusion durch die Placenta steht. Auch die Annahme einer verschiedenen Diffusionsgeschwindigkeit kann die gefundenen Konzentrationsunterschiede nicht erklären, da die Konzentrationskurven, wie erwähnt, parallel verlaufen.

Hingegen könnten die gefundenen Unterschiede durch die wenig wahrscheinliche Annahme gedeutet werden, daß der Fötus die betreffende Sulfonamidmenge schneller eliminiert als das Muttertier.

Eine wahrscheinlichere Erklärung für dieses Verhalten ist, daß die untersuchten Sulfonamide, Sulfapyridin, Sulfamethylthiazol und Sulfathiazol im Blute des mütterlichen Organismus zum Teil an größere Moleküle, z. B. Eiweißmoleküle, gekoppelt sind. Diese Annahme wurde von Harrestrup Andersen, Møller und Simesen[12] durch den Nachweis einer ultrafiltrierbaren und einer nicht ultrafiltrierbaren Form des Sulfathiazols im Plasma bestätigt. Die filtrierbare Fraktion beträgt etwa $^1/_3$ der gesamten Sulfathiazolkonzentration.

Zusammenfassung.

An Kaninchen wurde der Übergang von Sulfapyridin, Sulfamethylthiazol und Sulfathiazol von Muttertier zum Fötus untersucht. Für die drei untersuchten Stoffe wurde nur ein partielles Permeieren gefunden und das Verhältnis der Konzentration im Fötalblut zur Konzentration im mütterlichen Blute beträgt für Sulfapyridin etwa $^3/_5$, für Sulfamethylthiazol etwa $^2/_5$ und für Sulfathiazol etwa $^1/_3$. Die Konzentration im Fötalblut verläuft gleichsinnig mit den Konzentrationsänderungen im Blute des Muttertieres.

[12] Andersen, A. Harrestrup, K. O. Møller u. M. H. Simesen: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **199**, 528 (1942).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Kopenhagen.
(Chef: Prof. Dr. Knud O. Møller.)

Über die Zustandsform von Sulfathiazol im Blut, Urin und in der Cerebrospinalflüssigkeit.

Von

A. Harrestrup Andersen, Knud O. Møller und Margrethe H. Simesen.

(Eingegangen am 18. März 1942.)

Wie Harrestrup Andersen und Simesen[1] in einer früheren Untersuchung gezeigt haben, kann nur eine geringe Menge des im mütterlichen Blute vorhandenen Sulfathiazols durch die Placenta in das Fötalblut übergehen. Sulfathiazol weist in dieser Hinsicht ein anderes Verhalten auf als Sulfanilamid, welches die Placenta frei permeiert, wie Untersuchungen von Hesseltine und Hac[2]), Lee, Anderson und Chen[3], Speert[4] und Digonnet[5] ergeben haben.

Das für den Übergang der genannten Sulfanilamide vom mütterlichen Blute zum Fötalblut gefundene Verhalten erinnert in hohem Grade an das Verhalten, welches die gleichen Stoffe beim Übergang vom Blute in die Spinalflüssigkeit zeigen. Man kann jedoch nicht von vornherein erwarten, daß die Verteilung der Stoffe zwischen Blut und Spinalflüssigkeit bzw. zwischen mütterlichem Blute und Fötalblute auch in quantitativer Hinsicht die gleiche ist. Während das fötale Blut ständig an der „Schranke" vorbeifließt, die es vom mütterlichen Blute trennt, sind die Verhältnisse in der Cerebrospinalflüssigkeit völlig andere. Die Spinalflüssigkeit wird in den Ventrikeln des Gehirns gebildet, und es ist unbekannt, in welchem Grade der im Spinalkanal vorhandene Liquor in einen Diffusionsausgleich mit dem Blutplasma treten kann. Der durch Spinalpunktur gewonnene Liquor kann jedenfalls nicht als eine Flüssigkeit angesehen werden, die in völligem Diffusionsgleichgewicht mit dem Blutplasma steht, ein Verhalten, auf das bei Untersuchungen der Spinalflüssigkeit nicht genügend Wert gelegt wird. Carey[6], Spink und Hansen[7] haben Sulfathiazol in wesentlich geringeren Konzentrationen in der Spinalflüssigkeit als im Blute gefunden. Nach den Untersuchungen von Roelsen und Simesen[8] schwankt das Verhältnis zwischen der Konzentration des Sulfathiazols im Blute und im Liquor

---

[1] Andersen, Harrestrup A., u. M. H. Simesen: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **199**, 521 (1942). — [2] Adair, F. L., H. C. Hesseltine u. S. R. Hac: J. amer. med. Assoc. **111**, 766 (1938). — [3] Lee, H. M., R. C. Anderson u. K. K. Chen: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **38**, 366 (1938). — [4] Speert, H.: Bull. Johns Hopkins Hosp. **63**, 337 (1938). — [5] Digonnet, L.: C. r. Soc. Biol. **130**, 1085 (1939). — [6] Carey, B. W.: J. amer. med. Assoc. **115**, 924 (1940). — [7] Spink, W. W., u. A. E. Hansen: Ebenda **115**, 840 (1940). — [8] Roelsen, E., u. M. H. Simesen: Nord. Med. **13**, 87 (1942).

recht beträchtlich und beträgt beim Normalen im Mittel etwa 1 : 5. Sulfanilamid findet sich dagegen, wie Katzenelbogen, Cruvant und Silverberg[9] gezeigt haben, im Blute und in der Spinalflüssigkeit etwa in gleicher Menge.

Da sowohl die Placenta als auch die Blut-Liquorschranke vermutlich als ein „Molekülsieb" wirken, welches Stoffe von bestimmter, geringer Molekülgröße frei permeieren läßt, während Stoffe mit einem größeren Molekulargewicht vollständig zurückgehalten werden, und da der Unterschied im Molekulargewicht des Sulfanilamids und Sulfathiazols nicht von solcher Größenordnung ist, daß der Unterschied in der Permeation hierauf beruhen kann, haben wir als die wahrscheinlichste Erklärung für die ungleiche Verteilung des Sulfathiazols zwischen Blut und Spinalflüssigkeit bzw. zwischen mütterlichem und fötalem Blut die Hypothese aufgestellt, daß ein Teil des Sulfathiazols im Blute an größere Moleküle gebunden ist, so daß die gebundene Sulfathiazolmenge die Placenta oder die unbeschädigten Meningen nicht durchdringen kann.

In der vorliegenden Arbeit soll versucht werden, eine experimentelle Grundlage für diese Hypothese zu schaffen.

Eigene Untersuchungen.

Um zu untersuchen, ob ein Teil des Sulfathiazols in einer nicht ultrafiltrierbaren Zustandsform vorhanden ist, haben wir Versuche mit Ultrafiltration angestellt, wobei teils Membranen benutzt wurden, die eine sehr geringe Porengröße hatten, und andere, die eine relativ große Porenweite hatten, aber impermeabel für Eiweiß waren.

Ultrafiltration durch Membranen mit geringer Porengröße haben wir nach einer von Rehberg[10] angewandten Methode ausgeführt. Die Methode und die mit ihr gewonnenen Resultate seien zunächst beschrieben.

Eine Cellophanhülse, deren Porengröße Stoffe bis zu einem Molekulargewicht von etwa 300 permeieren läßt, wird in einem verzinnten Drahtnetz, das wie ein Zentrifugenglas geformt ist, angebracht. 10 ml der Lösung, die ultrafiltriert werden soll, werden in die Cellophanhülse gefüllt, und die Hülse mit Drahtkorb wird in ein Zentrifugenglas gesetzt, wobei die Hülse und das Glas zum Schutz gegen Verdampfung geschlossen werden. Dann wird mehrere Stunden mit einer Geschwindigkeit von etwa 3000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Wenn eine geeignete Menge (2–3 ml) filtriert ist, hört man auf zu zentrifugieren, und das Glas bleibt ungeöffnet 18–24 Stunden stehen. Die Sulfonamidmenge wird in der ursprünglichen Flüssigkeit, und im Filtrat und im Konzentrat nach der von Hecht[11] angegebenen Methode bestimmt.

Mit „freiem Sulfathiazol" wird im folgenden die nicht azetylierte Fraktion und mit „totalem Sulfathiazol" die Summe des freien und azetylierten Sulfathiazols bezeichnet.

[9] Katzenelbogen, Cruvant u. Silverberg: Amer. J. med. Sci. **201**, 724 (1941). — [10] Rehberg, P. Brandt: Nicht veröffentlicht. — [11] Hecht, G.: Derm. Wschr. **106**, 261 (1938).

Die angegebene Methode wurde gewählt, weil es einerseits auf diese Art möglich ist, sich schnell und leicht ein Ultrafiltrat von kleinen Plasmamengen zu beschaffen und andererseits, weil die Porenweite der benutzten Membran wahrscheinlich der in der Blut-Liquorschranke und in der Placenta vorhandenen entspricht, die beide Moleküle mit einem Molekulargewicht über etwa 300 zurückhält*. Die Methode hat aber den Nachteil, daß man kein Ultrafiltrat im eigentlichen Sinne erhält. Als Folge der relativ kleinen Porengröße der Membran wandern die Wassermoleküle unter dem Einfluß der Zentrifugalkraft schneller durch die Membran als die etwa 15fach größeren Sulfonamidmoleküle, oder mit anderen Worten, Wasser zentrifugiert schneller aus der Hülse heraus als Sulfonamid. Dieses Verhalten ist aus den in Tabelle 1 angegebenen Werten deutlich ersichtlich. Unmittelbar nach dem Zentrifugieren einer wässerigen Sulfathiazollösung findet man einen Anstieg der Konzentration in der Innenflüssigkeit, und eine geringere Konzentration in der Außenflüssigkeit. Läßt man die Hülse aber etwa 18—24 Stunden in der Außenflüssigkeit stehen, so tritt ein völliger Diffusionsausgleich ein, und die überschüssige Wassermenge diffundiert in die Innenflüssigkeit zurück, so daß die Konzentration zwischen Innen- und Außenflüssigkeit dieselbe wird. Die Versuche ergeben, daß in einer wässerigen Lösung alles Sulfathiazol filtrierbar ist, was erwartet werden konnte.

Tabelle 1.

	Konzentration in mg %			
	in der ursprünglichen Lösung	im Konzentrat	im Filtrat	
Wässerige Sulfathiazollösung	11,3	12,2	8,6	Analyse unmittelbar nach dem Zentrifugieren.
		11,6	10,9	Nach Stehen von 18 Stunden.
Wässerige Azetylsulfathiazollösung	14,0	16,6	12,1	Analyse unmittelbar nach dem Zentrifugieren.
		13,8	14,2	Nach Stehen von 18 Stunden.

Wenn man Plasma mit der beschriebenen Methode ultrafiltriert, so wandert das Wasser, wie zuvor erwähnt, schneller aus der Cellophanhülse als die Sulfonamidmoleküle und durch Stehenlassen diffundiert Wasser zurück. Theoretisch kann sich in diesem Falle kein vollständiges Diffusionsgleichgewicht einstellen, da der Gehalt der Innenflüssigkeit an Kolloiden fortgesetzt eine Wanderung von Wasser aus der Außenflüssigkeit zur Innenflüssigkeit bedingt, selbst nachdem sich annähernd Diffusionsgleichgewicht zwischen dem filtrierbaren Teil des Sulfonamids eingestellt hat. Es stellt sich mit anderen Worten ein gleitendes Gleichgewicht ein und ein echtes

* Molekulargewicht des Sulfathiazols = 255.

Ultrafiltrat wird nicht erhalten. Umfassende Untersuchungen von Rehberg (mündliche Mitteilung) haben indessen gezeigt, daß die Außenflüssigkeit nach einer Dialyse von etwa 18—24 Stunden in großer Annäherung einem Ultrafiltrat der Innenflüssigkeit entspricht, da die Zurückdiffusion des Wassers nur sehr langsam vor sich geht, wenn sich erst ein Elektrolytgleichgewicht eingestellt hat.

Obwohl die angewandte Methode also nicht absolut genaue Werte gibt, ist sie für die vorliegenden Zwecke durchaus anwendbar.

Die beschriebene Methode wurde auf wässerige Lösungen von Sulfathiazol und Azetylsulfathiazol, auf Urin von sulfathiazolbehandelten Patienten, auf Plasma von sulfathiazolbehandelten Kaninchen und Menschen, auf Liquor cerebro-spinalis von zwei Patienten mit jeweils seröser und mit eitriger Meningitis und auf Plasma dem Sulfathiazol in vitro zugesetzt war, angewandt. Außerdem wurde Plasma von einem mit Sulfanilamid behandelten Kaninchen untersucht. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Tabelle 2 zusammengestellt.

Tabelle 2 zeigt, daß Sulfathiazol (wie zuvor erwähnt) und Azetylsulfathiazol in wässeriger Lösung vollkommen ultrafiltrierbar sind (Nr. 1 und 2 in der Tabelle). Im Urin eines mit Sulfathiazol behandelten Patienten (Nr. 3) ist Sulfathiazol vollständig filtrierbar, was in Übereinstimmung mit der Annahme steht, daß der Stoff durch Ultrafiltration von den Glomeruli ausgeschieden worden ist.

Im menschlichen Plasma (Nr. 6, 7 und 8) und im Kaninchenplasma (Nr. 4 und 5) ist nach Sulfathiazolbehandlung nur etwa $^1/_3$ der gesamten Sulfathiazolmenge ultrafiltrierbar. Im filtrierbaren Teil macht die azetylierte Sulfathiazolmenge einen geringeren Teil der totalen Sulfathiazolmenge aus als im Plasma vor der Ultrafiltration.

Wenn Sulfathiazol dem Plasma in vitro zugesetzt wird (Nr. 9), ist auch nur $^1/_3$ der Sulfathiazolmenge imstande, die Membran zu durchdringen.

Zum Vergleich wurde ein einzelner Versuch mit dem Plasma von einem sulfanilamidbehandelten Kaninchen vorgenommen (Nr. 10). Der Versuch hat ergeben, daß etwa 85% der totalen Sulfanilamidmenge herausfiltriert sind, während nur 40% der Azetylsulfanilamidmenge ausfiltriert sind. Marshall[12] gibt im Gegensatz hierzu an, daß Sulfanilamid vollständig ultrafiltrierbar sei; soweit ersichtlich, hat Marshall aber nur Plasma von einem sulfanilamidbehandelten Hund ultrafiltriert, und Hunde azetylieren bekanntlich Sulfanilamid nicht. Aus unserem erwähnten, einzelnen Versuch können aber, abgesehen davon, daß Sulfanilamid in wesentlich höherem Grade ultrafiltrierbar ist als Sulfathiazol, was in guter Übereinstimmung mit den zuvor erwähnten Versuchen über die Verteilung des Sulfanilamids zwischen Blut und Liquor ist, keine sicheren Schlußfolgerungen gezogen werden.

[12] Marshall, E. K., J. Pharmacol. (Am.) **61**, 190 (1937).

Tabelle 2.

Nr.		Konzentration in mg%									% filtrierbar		Anmerkungen
		in der ursprünglichen Flüssigkeit			im Konzentrat			im Filtrat			total	azetyliert	
		frei	total	Azetyl	frei	total	Azetyl	frei	total	Azetyl			
1	Sulfathiazollösung	72	72	—	72	72	—	72	72	—	100	—	
2	Azetylsulfathiazollösung	—	19	19	—	19	19	—	19	19	100	100	
3	Urin von einem mit Sulfathiazol behandelten Patienten	260	290	30	260	290	30	260	290	30	100	100	
4	Plasma von einem mit Sulfathiazol behandelten Kaninchen	3,9	16,2	12,3	6,2	32,4	26,2	1,6	3,8	2,2	23	18	
5	Dasselbe	3,0	9,4	6,4	3,8	12,6	8,8	0,9	2,4	1,5	25	23	
6	Plasma von einem mit Sulfathiazol behandelten Patienten	5,2	7,5	2,3	6,7	9,6	2,9	2,7	3,6	0,9	48	39	
7	Dasselbe	5,9	7,9	2,0	7,6	10,6	3,0	2,6			—	—	Patient mit eitriger Meningitis.
	Liquor cerebro-spin. von einem mit Sulfathiazol behandelten Patienten	1,0	1,0		1,1	1,1	0,8	0,8			80		
8	Plasma von einem mit Sulfathiazol behandelten Patienten	5,5	6,9	1,4	6,3	8,7	2,4	1,7	2,0	0,3	29	21	Patient mit seröser Meningitis.
	Liquor cerebro-spin. von einem mit Sulfathiazol behandelten Patienten	0,5	0,5		0,5	0,5		0,5	0,5		100	—	
9	Kaninchenplasma mit zugesetztem Sulfathiazol (Vitroversuch) ...	8,7	8,7		9,8	9,8		3,4	3,4		39		
10	Plasma von einem mit Sulfanilamid behandelten Kaninchen	3,5	5,3	1,8	3,5	5,2	1,7	2,8	4,5	0,7	85	39	

In der Spinalflüssigkeit von einem Patienten mit seröser Meningitis (Nr. 8) wurde alles Sulfathiazol ultrafiltrierbar gefunden, was in Übereinstimmung mit der Annahme steht, daß Sulfathiazol durch die Blut-Liquorschranke in den Liquor filtriert worden ist. Im Liquor eines Patienten mit eitriger Meningitis (Nr. 7) wurden etwa 20% des Sulfathiazols in „gebundener" Form gefunden. Dieser Befund deutet darauf hin, daß die Blut-Liquorschranke bei der eitrigen Meningitis beschädigt worden ist, was auch darin zum Ausdruck kommt, daß im Liquor Eiweiß auftritt. Daß diese Deutung richtig ist, wird fernerhin durch frühere Untersuchungen von Roelsen und Simesen[8] bestätigt, in denen gezeigt wurde, daß das Verhältnis zwischen Sulfathiazol im Liquor und im Blute, das beim Normalen und bei Patienten mit seröser Meningitis etwa 1 : 5 ist, bei Patienten mit eitriger Meningitis 1 : 2 ist.

Die beschriebenen Versuche haben also ergeben, daß ein wesentlicher Teil des Sulfathiazols im Plasma in einer nicht filtrierbaren Zustandsform vorhanden ist. Da dieses auch dann der Fall war, wenn das Sulfathiazol im Reagensglas dem Plasma direkt zugesetzt wurde, war von vornherein wahrscheinlich, daß Sulfathiazol im Plasma zum großen Teil an größere Moleküle gebunden wird, und zwar möglicherweise an Eiweißstoffe. Um diese Annahme zu prüfen, und um ein genaues Maß für die Größe der nicht filtrierbaren Sulfathiazolmenge zu erhalten, wurde ein Versuch mit Ultrafiltrierung durch ein Kollodium-Chamberland-Filter mit einer Porengröße, die nur etwas geringer war als die Molekülgröße der kleinsten Plasma-Proteine, vorgenommen.*

Etwa 200 ml Plasma von einem mit Sulfathiazol behandelten Patienten wurden mit Unterdruck durch das genannte Kollodiumfilter filtriert. Nach 24 Stunden war etwa die Hälfte filtriert, und die Filtrierung wurde unterbrochen. Die erste Fraktion des Filtrats wurde nicht benutzt. Die Konzentrationsbestimmung des Sulfathiazols im ursprünglichen Plasma, im Konzentrat und im Filtrat ergab folgende Werte:

mg% Sulfathiazol	Freies	Totales
Ursprüngliches Plasma	6,7	7,8
Konzentrat	12,5	16,0
Filtrat	1,4	1,4

Der Versuch zeigt, daß im ursprünglichen Plasma 21% filtrierbares „freies Sulfathiazol", 18% filtrierbares „totales Sulfathiazol" vorhanden waren, und daß Azetylsulfathiazol überhaupt nicht filtrierbar war.

* Die Ultrafiltrierung wurde freundlicherweise von Dr. phil. Albert Hansen im staatlichen Seruminstitut ausgeführt, wo die Filter der genannten Art ständig zur Reinigung von Tuberkulin benutzt (und geeicht) werden.

Diskussion.

Die Versuche haben eindeutig ergeben, daß nur ein kleiner Teil der im Plasma vorhandenen Sulfathiazolmenge eine Membran, die Eiweißstoffe zurückhält, durchdringen kann, obwohl die Porengröße nur wenig kleiner ist, als der Größe der Eiweißmoleküle entspricht. Bis auf weiteres muß man daher annehmen, daß ein wesentlicher Teil des Sulfathiazols an Plasmaproteine gebunden wird und daher nicht durch die Membranen, die für Eiweiß impermeabel sind, permeieren kann.

In den Versuchen mit Cellophanmembranen mit kleinen Poren wurde gefunden, daß etwa $^1/_3$ des im Plasma vorhandenen Sulfathiazols filtrierbar ist. In einem Versuch mit einer Kollodiummembran von größerer Porenweite war nur $^1/_5$ der Sulfathiazolmenge im Plasma filtrierbar. Dieser Unterschied ist wahrscheinlich Ausdruck für individuelle Schwankungen in den untersuchten Plasmaproben. Es sei in diesem Zusammenhang erwähnt, daß Roelsen und Simesen[8] eine Sulfathiazolkonzentration im Liquor gefunden haben, die $^1/_5$ der im Plasma vorhandenen beträgt, und daß Harrestrup Andersen und Simesen[1] im Fötalblut $^1/_3$ der Konzentration gefunden haben, die im Plasma vorhanden ist.

In Übereinstimmung mit den Ultrafiltrationsversuchen an Plasma, in denen gefunden wurde, daß Azetylsulfathiazol schwieriger filtrierbar ist als das nicht azetylierte Sulfathiazol (oder wie beim Versuch mit Kollodiummembranen überhaupt nicht filtrierbar ist), haben frühere Untersuchungen ergeben, daß im Liquor cerebrospinalis normalerweise keine größeren Mengen azetyliertes Sulfathiazol (oft ist es nicht nachweisbar) vorhanden sind.

Auf Grund der vorliegenden Versuche muß man also damit rechnen, daß Sulfathiazol im Plasma in vier verschiedenen Zustandsformen vorhanden ist: 1. filtrierbares, freies Sulfathiazol; 2. nicht filtrierbares, freies Sulfathiazol; 3. filtrierbares, azetyliertes Sulfathiazol und 4. nicht filtrierbares, azetyliertes Sulfathiazol. Dieses Verhalten gibt eine zwanglose Erklärung für die ungleiche Verteilung des Sulfathiazols zwischen Plasma und Cerebrospinalflüssigkeit und zwischen mütterlichem Blut und fötalem Blut.

Da Sulfathiazol relativ schnell durch Ultrafiltration in den Nieren ausgeschieden wird, muß man annehmen, daß die Bindung des Sulfathiazols an ein größeres Molekül (wahrscheinlich Eiweiß) reversibel ist, daß zwischen dem filtrierbaren und gebundenen Teil ein Gleichgewichtszustand besteht, und daß Sulfathiazol aus der gebundenen Form in die filtrierbare übergeht, wenn filtrierbares Sulfathiazol fortlaufend durch die Nieren ausgeschieden wird. Weitere Untersuchungen sind im Gange, um festzustellen, ob die Bindung als ein Adsorptionsprozeß aufgefaßt werden kann.

Zusammenfassung.

1. Im Plasma sind $^2/_3$ bis $^4/_5$ des Sulfathiazols in einer nicht ultrafiltrierbaren Zustandsform vorhanden, was möglicherweise durch eine Bindung an Plasmaeiweißkörper bedingt wird.

2. Im Urin und in der normalen Cerebrospinalflüssigkeit ist die gesamte Sulfathiazolmenge ultrafiltrierbar.

3. In der Cerebrospinalflüssigkeit eines Patienten mit eitriger Meningitis war ein geringer Teil des Sulfathiazols nicht filtrierbar. Dieser Befund deutet auf eine Beschädigung der Blut-Liquorschranke, die gleichzeitig für Eiweißstoffe permeabel geworden ist.

4. Die Tatsache, daß Sulfathiazol im Plasma nur zum Teil ultrafiltrierbar ist, erklärt die ungleiche Verteilung des Sulfathiazols zwischen Blut und Liquor cerebrospinalis und zwischen mütterlichem und fötalem Blut.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Göttingen.
(Direktor: Prof. Dr. E. Frey.)

Die Wirkung der Natriumsalze der Halogenessigsäuren auf die Zuckungshöhen und Kontrakturen der Froschsartorien*.

Von

R. Weigmann und K. Edam.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 28. März 1942.)

Einleitung.

In zahlreichen Untersuchungen nützte man die Fähigkeit der Halogenessigsäuren, insbesondere der Monojodessigsäure, aus, störend in den Muskelstoffwechsel einzugreifen, nachdem erstmalig Pohl (1888), neuerdings Schwartz und Oschmann (1924, 1925) und Lundsgaard (1930) auf diese Tatsache aufmerksam machte. In erster Linie waren es Versuche, die mit chemischen Methoden einmal den Angriffspunkt der Monojodessigsäure klarstellen und zum anderen damit auch einen Einblick in den Ablauf der chemischen Prozesse bei der Muskelkontraktion gewähren sollten. Es ist hierbei an die Arbeiten der Embdenschen Schule und an andere zu erinnern. Wenn auch bei der Analyse des Kohlehydratstoffwechsels wichtige Aufschlüsse über die chemischen Prozesse bei der Muskelkontraktion gewonnen werden konnten, so interessiert uns auf der anderen Seite auch die Wirkung der Halogenessigsäuren auf die Leistung des Muskels. Ganz besonders naheliegend ist hierbei ein Vergleich der Wirkung isomolarer Lösungen.

In der Literatur sind gelegentlich einzelne Halogenessigsäuren in ihrer Wirkung auf den Muskel untersucht worden, aber einmal wurden hierzu meist höher konzentrierte Lösungen verwandt und dann vielfach die Ausbildung einer Kontraktur als Wirkungsmaßstab verwertet (Lundsgaard, 1932, Pohl, 1888 u. a.).

Wir haben daher die Wirkung der Mono-, Di-, Trichlor-, Mono-, Di-, Tribrom- und der Monojodessigsäure in Form ihrer Natriumsalze auf die isotonische Kontraktion des Froschmuskels untersucht und dabei isomolare Lösungen angewandt. Hierbei läßt sich eine Wirkung auf die Hubhöhen — also die Kontraktionen — des isolierten, direkt gereizten Froschsartorius und bei gewissen Konzentrationen die Ausbildung einer Kontraktur beobachten.

* Ein Teil der Ergebnisse dieser Untersuchung wurde von K. Edam im Juli 1941 der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Jena als Dissertation vorgelegt.

Material und Methoden.

Zu den Versuchen benutzten wir *Rana temporaria* in der Zeit von Mai 1940 bis Dezember 1940 und vom November 1941 bis Februar 1942.

Die beiden Sartorien wurden in Serie geschaltet, mit einzelnen übermaximalen Öffnungsinduktionsstromstößen im Reizabstand von 1 Sek. gereizt. Die Muskelkontraktionen registrierten wir mit Hilfe von Schreibhebeln gleicher Länge auf dem Rußkymographion. Durch Kontrollversuche war sichergestellt, daß die Schreibhebel dem Muskel gleiche — wenn auch nur sehr geringe — Widerstände entgegensetzten und damit die vom Muskel zu leistende Arbeit bei beiden Schreibhebeln die gleiche war. Zunächst brachten wir die beiden Muskel in Froschringerlösung und nach Registrieren einer Serie von Zuckungen (meist 15) den einen Muskel in Ringerlösung mit einem entsprechenden Zusatz einer Halogenessigsäure. In Abständen von meist 5 Min. (nur bei langdauernden Versuchen 15 oder 30 Min.) wurden dann Zuckungsserien registriert. Für die Reizung wurde die Flüssigkeit von den Muskeln entfernt.

Die verwendeten Halogenessigsäuren waren analysenreine Substanzen des Handels. Dazu ist zu bemerken, daß das Präparat Tribromessigsäure nach Mitteilung der Firma Schuchart etwa 85% CCl_3COOH enthält und daneben noch Verunreinigungen (Mono- und Dibromessigsäure und Essigsäure). Von den Präparaten wurden im allgemeinen stärkere Stammlösungen im molaren Verhältnis hergestellt, aus denen durch entsprechende Verdünnung die Lösungen für den Versuch gewonnen wurden. Die Lösungen wurden mit n/10 NaOH neutralisiert, so daß wir jeweils die Na-Salze der betreffenden Halogenessigsäure auf den Muskel einwirken ließen.

In den Rußkurven wurden die Hubhöhen zunächst in Millimetern ausgemessen und dann die Prozente der Hubhöhen berechnet. Dabei wurde die Hubhöhe bei der Reizung in Ringerlösung vor Zugabe der Halogenessigsäure als 100% eingesetzt.

Ein Teil der Versuche wurde mit einer älteren Versuchsanordnung durchgeführt. Die Ergebnisse konnten mit einer inzwischen geschaffenen sehr exakt arbeitenden Apparatur bestätigt werden.

Versuchsergebnisse.

A. Wirkung der Halogenessigsäure auf die Muskelkontraktionen bei Serienreizen.

I. Monochloressigsäure (M.Chl.Ess.).

In hohen Konzentrationen macht die M. Chl. Ess. eine starke Schädigung. So fällt im Extrem die Hubhöhe des Muskels in m/10-Lösung innerhalb von 6 Min. auf 0% ab (13. 12. 41). In Ringerlösung erholt sich dieser Muskel wieder völlig In zwei weiteren Versuchen (27. 9. 40. II, 30. 9. 40) mit m/10 M. Chl. Ess. stirbt der Muskel in 45 Min. ab. Nur in einem Versuch (7. 11. 40. I) ist keine Beeinflussung der Muskelzuckungshöhe durch die m/10 M. Chl. Ess. zu erkennen. Es ist hier zu bemerken, daß in den letzten drei Versuchen die Ende September, anfangs November 1940 durchgeführt wurden, die Hubhöhe des Kontrollmuskels auch sehr rasch abfiel. Bei dem ersten angeführten Versuch (13. 12. 41) mit dem sehr raschen Abfall des Versuchsmuskels hielt sich der Kontrollmuskel über 100%.

Im weiteren wurde Versuchsmuskel mit VM und Kontrollmuskel mit KM abgekürzt.

In 4 Versuchen mit einer m/100 Lösung waren die VM nicht wesentlich verschieden vom KM. Bei 3 dieser Versuche (26. 9. 40. I, 7. 11. 40. II, 11. 11. 40) fallen VM und KM in 40 Min. um 30—50% ab. Bei dem 4. Versuch (1. 12. 41) halten

sich VM und KM ungefähr $2^1/_2$ Std. zwischen 90 und 100 % und noch nach ungefähr $8^1/_2$ Std. ist die Hubhöhe bei beiden Muskeln noch ungefähr 15 %. Diesen 4 Versuchen mit indifferentem Verhalten des beeinflußten Muskels stehen 3 Versuche (27., 28., 29. 11. 41) gegenüber, die eine ausgesprochene Schädigung des VM durch die m/100 M. Chl. Ess. zeigen (Abb. 1). Während in den ersten 2 Stunden die Hubhöhen von VM und KM parallel verlaufen, fällt nach dieser Zeit der VM rasch ab und erreicht nach etwa $1^1/_2$ Std. die Nullinie. In 2 Versuchen mit den Sartorien von Rana esculenta fiel bei dem einen (25. 11. 41) von Anfang an der VM sehr rasch

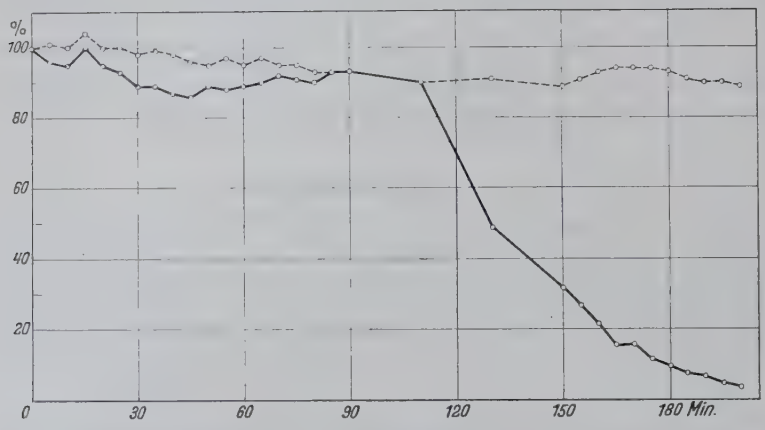


Abb. 1. Schädigende Wirkung von m/100 monochloressigs. Na auf den Froschsartorius (Versuch vom 27. 11. 1941). Abszisse: Zeit; Ordinate: Prozente der Hubhöhen, bezogen auf die Anfangshubhöhen (= 100 %); ——— = Versuchsmuskel; — — — = Kontrollmuskel.

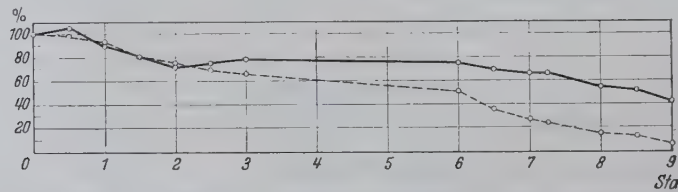


Abb. 2. „Fördernde" Wirkung von m/10000 monochloressigs. Na auf den Froschsartorius (Versuch vom 5. 12. 41). Abszisse: Zeit; Ordinate: Prozente der Hubhöhen bezogen auf die Anfangshubhöhen (= 100 %); ——— = Versuchsmuskel; — — — = Kontrollmuskel.

ab. In dem anderen Versuch (26. 11. 41) fielen beide Muskeln ziemlich rasch und gleichlaufend ab.

Auch bei der Einwirkung der m/1000 Lösung nimmt die Hubhöhe von KM und VM in einem Versuch (18. 10. '40. I) rasch ab (nach 70 Min. noch 10—15 % der Anfangshubhöhe). Die Zuckungshöhen der beiden Muskeln verlaufen dabei annähernd parallel, mit nur geringen Abständen. In zwei weiteren Versuchen (2. und 12. 12. 41) fällt der KM auch langsam ab (in 7 Std. auf 21 bzw. 39 %), der VM zeigt aber einen — anfangs zwar nur unwesentlichen — nach etwa 2—4 Std. einsetzenden rascheren Abfall und erreicht nach etwa 6—7 Std. 0 %.

Die Sartorien von 6 Fröschen wurden in m/10000 M. Chl. Ess. gebracht. Bei zweien (4. und 11. 12. 41) nahmen die VM und KM nahezu gleichmäßig ab. In den übrigen 4 Versuchen (5., 8., 9., 10. 12. 41) fiel die Hubhöhe des VM entweder von Anfang an oder nach etwa 3 Std. langsamer ab als die des KM (Abb. 2). So lag nach 8—9stündiger Versuchsdauer der VM um 12—36 % (Mittelwert 21,5 %) über dem KM.

II. Dichloressigsäure (Di-Chl.Ess.).

In der m/10 Di-Chl. Ess. fallen die Hubhöhen von 4 VM (29. 10. 40. IV, 6. 11. 40, 8. 1., 9. 1. 42) sehr rasch ab. Bei den Versuchen (29. 10, 6. 11. 40), bei denen auch die KM ziemlich rasch abnehmen, fällt der VM in 25—30 Min. in den beiden anderen in etwa 5 – 15 Min. auf 0% ab. Diese Muskeln erholen sich, in Ringerlösung gebracht, wieder weitgehend.

Drei Muskeln in m/100 Di-Chl. Ess. fallen annähernd gleich schnell wie die Kontrollen ab (5. 11. 40. I, 5. 11. 40. II, 26. 11. 40). Bei dem Versuch vom 30. 10. 40. II ist der Abfall der Hubhöhen beim VM stetig zunehmend. Es fallen bei diesen 4 Versuchen die KM auch ziemlich rasch ab. Von zwei Versuchen (15. und 16. 12. 41, zeigte der eine nach 2 Std. eine leichte Schädigung von 10% und der andere nach 6 Std. eine solche von 45% (16. 12. 41).

Bei dem einen Versuch mit m/1000 (31. 10. 40) fallen die Hubhöhen des VM anfangs sehr rasch ab, so liegen sie im Maximum (40 Min.) 41% unter dem KM. Im weiteren Verlauf des Versuchs nähern sich die Hubhöhen des KM dann wieder denen des VM.

In den ersten 3—4 Std. der Einwirkung einer m/10000 Lösung verlaufen Versuchs- und Kontrollmuskelhubhöhen annähernd gleich (1. 11. 40, 17. 12., 18. 12. 41), dabei liegt der VM stets unter dem KM. 6 Std. nach Versuchsbeginn hat dann aber der eine VM (17. 12. 41) eine um 36% größere Hubhöhe als der KM und behält diese Differenz für 2 weitere Stunden bei.

Eine ähnliche Wirkung hat auch m/100000 Di-Chl. Ess., bei der auch anfangs der VM unter dem KM liegt und nach 6 bzw. $6^1/_2$ Std. größere Hubhöhen aufweist (13. und 14. 1. 42).

III. Tri-Chloressigsäure (Tri-Chl.Ess.)

Auch bei der Tri-Chl. Ess. fallen die Hubhöhen des VM in der m/10 Lösung sehr rasch — in 15Min. — auf 0% ab (6. 12. 40. III).

Deutlich ist auch eine Hemmung der Muskelkontraktionen durch m/100 Tri-Chl. Ess. (7. 11. 40. III, 8. 11. 40. II, 8. 11. 40. III). Der Abfall der Hubhöhen setzt gleich von Beginn der Einwirkung an sehr stark ein. In einem Versuch ist nach 15 Min. die Nullinie erreicht (8. 11. 40. II) und bei den beiden anderen beträgt die Hubhöhe nach etwa 1 Std. rund 15%; von diesem Wert an fällt der Muskel nur sehr langsam weiter ab.

Auch noch bei der m/1000 Lösung zeigten 2 Versuche (15. 11. 40. II, 19. 11. 40. II) einen deutlich stärkeren Abfall des VM in den ersten 1—3 Std. des Versuchs. In einem Versuch (13. 11. 40. II) liegen die Zuckungshöhen des VM zeitweise über, zeitweise unter denen des KM (nach $6^1/_2$ Std. 26% über dem KM).

Die Hubhöhen sind bei 2 Versuchen (20. 11. 40. II, 21. 11. 40. II) mit m/10000 Tri-Chl. Ess. beim VM und KM fast identisch.

Auch bei noch weiterer Verdünnung der Tri-Chl.Ess., so bei Versuchen mit $1 : 10^5$ (22. 11. 40. II, 26. 11. 40. II), $1 : 10^7$ (16. 1., 19. 1. 42), $1 : 10^8$ (21. 1. 42), $1 : 10^9$ (11. 2. 42) sind die Hubhöhen von VM und KM nahezu identisch. In einem Versuch (15. 1. 42) mit m/10^6 Tri-Chl. Ess. fällt der VM rascher ab als der KM und liegt nach 3 Std. um 24% unter dem KM.

IV. Monobromessigsäure (M-Br.Ess.)

In der m/10 Lösung fallen die Hubhöhen des VM sofort sehr rasch ab und erreichen nach 20 Min. nahezu 0% (4. 10. 40. I und II).

Auch bei der Einwirkung von m/100 (9. 10. 40) und m/1000 (10. 10. 40. I) fallen die Hubhöhen des VM noch sehr rasch ab und erreichen nach etwa $^3/_4$ Std. annähernd 0% (auch die KM fallen ziemlich stark ab und haben schließlich noch 50%).

Weitere Verdünnungen bewirken bei m/10000 noch in einem Versuch (10. 10. 40, II) deutliche Herabsetzung der Hubhöhen, bei einem zweiten Versuch (8. 11. 40. I) ein indifferentes Verhalten, wie auch bei $m/10^6$ (11. 10. 40. I, 12. 11. 40, 13. 11. 40. I). Nach kurz dauernder Einwirkung (1 Std.) von M-Br. Ess. $m/10^7$ (11. 10. 40. II) und $m/10^8$ (14. 10. 40) läßt sich noch eine Schädigung feststellen. Im langdauernden Versuch mit $m/10^8$ stellt man aber fest, daß nach etwa $1^1/_2$—$2^1/_2$ Std. die Hubhöhenprozente des VM, die anfangs unter dem KM lagen, jetzt — wenn auch zunächst nur wenig — über diesem liegen. Nach 6—8 Std. liegen die Hubhöhen des VM dann um 18% (22. 1. 42) und 42% (23. 1. 42) über dem KM.

V. Dibromessigsäure (Di-Br. Ess.)

Schon in 10 Min. (28. 11. 40. III) bis 15 Min. (27. 11. 40. III) fällt der VM in der m/10 Di-Br. Ess. auf 0% ab.

Auch in Lösungen von m/100 (27. 11. 40. I, 28. 11. 40. I) und m/1000 (29. 11. 40. I, 29. 11. 40. III) fallen die Hubhöhen der VM recht rasch ab und erreichen nach $^1/_2$—1 Std. 0%.

Bei den Versuchen mit Lösungen $m/10^7$ (2. 12. 40. I, 29. 1. 42) und $m/10^9$ (3. 12. 40. I) zeigen die Muskeln kein eindeutiges Verhalten. Manchmal liegen die Hubhöhen des VM etwas über (29. 1. 42), manchmal unter (2. 12. 40. I) dem KM und manchmal verhält sich der VM indifferent (3. 12. 40. I). In zwei Versuchen (3. 12. 40. IV und 30. 1. 42) mit $m/10^{11}$ Di-Br. Ess. fallen die KM stärker ab als die VM.

VI. Tribromessigsäure (Tri-Br. Ess.)

Der Abfall der Hubhöhen erfolgt in der m/10 Di-Br. Ess. sehr rasch, in 10 Min. (3. 12. 40. V) und etwa 20 Min. (3. 12. 40. III).

Sehr deutlich ist die schädigende Wirkung auch noch bei der m/100 Di-Br. Ess., in dem nach einem anfänglich sehr raschen Abfall der Hubhöhen der VM nach 2 Std. noch 2% (3. 12. 40. II) und 10% (2. 12. 40. II) betragen.

Auch in der Lösung m/1000 fallen die Hubhöhen der VM zunächst rascher ab als die der KM (4. 12. 40. I und 2. 2. 42). Noch bei längerer Dauer, 6—9 Std., verliert sich aber der anfängliche Unterschied (15—20%) wieder völlig.

Schließlich beobachteten wir bei der Lösung m/10000, daß die Hubhöhen des VM von Anfang an (5. 12. 40. I) oder nach ungefähr 2 Std. (4. 2. 42) langsamer abfallen als beim KM.

VII. Monojodessigsäure (M. J. Ess.)

Ein schädigender Einfluß der M. J. Ess. ließ sich bis zu einer Verdünnung $m/10^7$ wahrnehmen. Die Wirkung nimmt mit fallender Konzentration allmählich ab. So erreicht der Muskel in m/10 nach 15 Min. 0% (24. 10. 40. I), in m/100 nach 60 Min. (23. 10. 40), in m/1000 nach 75 Min. (21. 10. 40), in m/10000 nach über 2 Std. (18. 10. 40. II) in m/100000 erreicht der VM nach $2^1/_2$ Std. 20% (24. 10. 40. II) und in $m/10^7$ liegt der VM 6—24% unter dem KM (25. 10. 40. I).

Von $m/10^9$ ab liegen die Prozente für die Hubhöhen des VM zum Teil nur wenig über oder auch unter dem KM, so bei $m/10^9$ um 3—9% über (25. 10. 40. II), bei $m/10^{10}$ um rund 10% über (25. 10. 40. III), bei $m/10^{11}$ um 3—12% über (29. 10. 40. I), bei $m/10^{12}$ zeitweise um 9% unter und um 9% über (30. 10. 40. I) dem KM; oder es waren die Hubhöhen anfangs nahezu identisch und erst nach sehr langer Versuchsdauer lag der VM 15% unter dem KM (1. 1. 40. II). Auch bei einem 9stündigen Versuch mit $m/10^{12}$ M. J. Ess. waren VM und KM fast vollständig identisch (5. 2. 42) und bei $m/10^{14}$ nach anfänglicher Identität schließlich nach fast 9 Stunden 12—18% über dem KM (6. 2. 42).

Die Ergebnisse der Versuche, in denen wir die Wirkung der Halogenessigsäuren auf die Hubhöhen der Muskeln bei Serien von Reizen beobachteten, sind in der Tabelle 1 kurz zusammengefaßt. Fällt die Hubhöhe des VM rascher ab als die des KM, dann wurde dies in der Tabelle mit h (= hemmend), beim umgekehrten Verhalten mit f (= „fördernd") bezeichnet. Mit i (= indifferent) führten wir die Versuche an, in denen der Versuchs- und Kontrollmuskel nahezu gleichmäßig abfällt. Wenn wir das längere Hochbleiben der Zuckungshöhe als „Förderung" bezeichnen, so wollen wir damit lediglich das Verhalten des Muskels charakterisieren, damit aber nicht irgend einen Einfluß der betreffenden Halogenessigsäure auf die Prozesse bei der Muskelkontraktion zum Ausdruck bringen.

Tabelle 1.

Substanz	m/10^1	10^2	10^3	10^4	10^5	10^6	10^7	10^8	10^9	10^{10}	10^{11}	10^{12}	10^{14}
Monochlor-essigsäure	h (3) i (1)	h (3+1*) i (4+1*)	h (3)	i (2) f (4)									
Dichlor-essigsäure	h (4)	h (3) i (3)	h (1)	i (2) f (1)	f (2)								
Trichlor-essigsäure	h (2)	h (3)	h (2) i (1)	i (2)	i (2)	h (1)	i (2)	i (1)	i (1)				
Monobrom-essigsäure	h (2)	h (2)		h (1) i (1)		i (3)	h (1**)	h (1**) f (2)					
Dibrom-essigsäure	h (2)	h (2)	h (2)				h (1) f (1)		i (1)		f (2)		
Tribrom-essigsäure	h (2)	h (2)	h (2)	f (2)									
Monojod-essigsäure	h (1)	h (1)	h (1)	h (1)	h (1)		h (1)		f (1)	f (1)	f (1)	i (3)	f (1)

h = hemmend; i = indifferent; f = „fördernd". Zahl der Versuche in Klammern.

* Versuch an Rana esculenta. ** Kurzdauernder Versuch.

Aus der Tabelle 1 ersehen wir, daß in den hohen Konzentrationen bis zu einer m/1000 Lösung alle 7 Substanzen schädigend wirkten. Bei der Trichloressigsäure konnte noch bei m/10^6 — allerdings nur in einem Versuch — bei Monobromessigsäure bei m/10^7 und m/10^8, bei Dibromessigsäure bei m/10^7 und besonders bei Monojodessigsäure bis zu m/10^7 eine Hemmung beobachtet werden. Die hemmende Wirkung bei den stärkeren Verdünnungen von Trichlor-, Monobrom-, Dibromessigsäure ist nun möglicherweise als Streuung zu betrachten, indem bei den einzelnen Versuchen der eine Versuch einmal ein rascheres, einmal ein langsameres Absinken des Versuchsmuskels gegenüber dem Kontrollmuskel zeigt.

Nun sehen wir weiterhin in Tabelle 1, daß bei stärker verdünnten Lösungen verhältnismäßig mehr Versuche einen langsameren Abfall der Hubhöhen des Versuchsmuskels gegenüber dem Kontrollmuskel zeigen.

Das ist der Fall bei der Monochloressigsäure, bei $m/10^4$, bei der Dichloressigsäure bei $m/10^5$, bei der Trichloressigsäure sehen wir bis zu $m/10^9$ keine derartige „Förderung". Auch bei Mono- und Dibromessigsäure trat der langsamere Abfall des Versuchsmuskels erst bei 10^{-8} und 10^{-11} auf, während ein solcher bei der Tribromessigsäure schon bei $m/10^4$ zu beobachten ist. Die Monojodessigsäure macht von $m/10^9$ bis $m/10^{14}$ eine „Förderung".

Die „Förderung" tritt in manchen Fällen vom Beginn der Einwirkung, in anderen nach 2 Std. oder schließlich erst nach vielen (5—6) Stunden in Erscheinung.

B. Wirkung der Halogenessigsäuren bei Dauerreizen.

Der Einfluß der Halogenessigsäuren auf die Zuckungshöhen, der sich bei den Versuchen mit einzelnen durch Erholungspausen getrennte Reizserien zeigte, muß besonders auch in Erscheinung treten, wenn die Muskeln dauernd, bis zur Erschöpfung gereizt werden. Wir benutzten zu derartigen Versuchen übermaximale Induktionsöffnungsströme an den in Serie geschalteten Froschsartorien. Die Reizung erfolgte in Reizabständen von 1 sec in Luft, nachdem der eine der beiden Muskeln eine bestimmte Zeit in der Halogenessigsäure verweilte. Die erhaltenen Kurven wurden ausplanimetriert und durch Division dieser Fläche durch die Länge der Kurve die mittlere Hubhöhe berechnet. Diese wurde in Prozenten der Hubhöhe zu Beginn der Reizung (= 100%) ausgedrückt.

Das Ergebnis dieser Versuche ist in Tabelle 2 zusammengefaßt.

Tabelle 2. Wirkung der Hal.-Ess. auf die Ermüdung bei Reizung alle Sekunden (Dauerreizung).

$m/10^n$ n =	Dauer der Vergiftung in Min.	Länge der Kurve in mm	Hubhöhe zu Beginn	Planimetrische Fläche in qmm	Durchschnittshubhöhe in	
					mm	%
Monochloressigsäure.						
2	40	218	22	3250	14,9	68
Ringer			16	1710	7,9	49
2	40	172	16,4	1020	5,9	36
Ringer			19,8	890	5,2	26
Dichloressigsäure.						
2	45	116	15	1720	14,8	99
Ringer			13,9	1250	10,8	78
2	30	164,5	15,5	1650	10,0	65
Ringer			17,9	1570	9,6	54
Trichloressigsäure.						
4	420	172	14,4	3520	20,5	143
Ringer			10,8	2460	14,3	133
5	270	244,5	17,5	2490	14,3	82
Ringer			15,3	2620	10,7	70
5	470	235	4,6	1120	4,7	102
Ringer			6,7	1730	7,3	109

Tabelle 2 (Fortsetzung).

$m/10^n$ $n =$	Dauer der Vergiftung in Min.	Länge der Kurve in mm	Hubhöhe zu Beginn	Planimetrische Fläche in qmm	Durchschnittshubhöhe in	
					mm	%
			Monobromessigsäure.			
6	90	134	14	1400	10,4	74
Ringer			13	540	4,0	31
6	80	262	10,5	1280	4,9	47
Ringer			12,8	1340	5,1	40
6	70	170,2	12,7	1630	9,6	76
Ringer			6,7	430	2,5	37
7	75	341	14,1	2330	6,8	48
Ringer			20,2	4170	12,2	60
7	120	84,5	4,7	260	3,1	66
Ringer			6,6	390	4,6	70
10	65	423,5	17,7	3970	9,4	53
Ringer			21,7	3620	8,6	40
			Dibromessigsäure.			
6	20	84,6	14,8	1130	13,3	90
Ringer			14,4	1040	12,3	85
9	250	411	11,6	1620	4,0	35
Ringer			12,5	2640	6,4	51
11	120	287	15	2980	10,4	70
Ringer			13,5	1860	6,5	48
			Tribromessigsäure.			
3	115	210	6,6	1620	7,7	117
Ringer			10,7	2280	10,9	102
4	165	360	18,3	4550	12,6	69
Ringer			15,2	3840	10,7	70
			Monojodessigsäure.			
11	90	238	10,7	1550	6,5	61
Ringer			9,1	1080	4,5	49
11	60	337,5	21,5	3810	11,3	53
Ringer			17,3	3330	9,9	57

Vergleicht man in der Tabelle 2 die in der letzten Spalte aufgeführten Prozentzahlen, so sieht man, daß bei den drei Chloressigsäuren bis auf einen Versuch mit Trichloressigsäure die mittlere Hubhöhe des Versuchsmuskels größer ist als beim Kontrollmuskel. Diese „fördernde" Wirkung tritt bei der Mono- und Di-Chloressigsäure bei m/100 nach 30—45 Min. Einwirkung, bei der Trichloressigsäure in $m/10^4$ und $m/10^5$ nach 270 und 420 Min. Einwirkung auf. In dem letzten angeführten Versuch mit Trichloressigsäure ist die mittlere Hubhöhe beider Muskeln annähernd gleich.

In der Monobromessigsäure $m/10^6$ bis $m/10^{10}$ sind bei 3 Versuchen die mittleren Hubhöhen des VM prozentual größer, in einem kleiner und in zwei nahezu gleich groß wie im KM. Es handelt sich also hier höchstens um eine leicht „fördernde" Wirkung der Monobromessigsäure. Bei der

Dibromessigsäure m 10^6 und m/10^9 werden die VM nicht beeinflußt, höchstens etwas gehemmt. In der m/10^{11} ist die mittlere Hubhöhe des VM größer als beim KM.

Während in der Tribromessigsäure m/10^3 eine „fördernde" Wirkung zustande kommt, verhält sich der VM in der Lösung m/10^4 indifferent.

Eine ebensolche Wirkung hat die Monojodessigsäure m/10^{11}.

Vergleicht man diese Ergebnisse mit den in Tabelle 1 zusammengefaßten der Versuche mit Reizserien, so zeigt sich, daß ein „fördernder" Effekt in der Monochloressigsäure bei den Dauerreizen bereits bei m/10^2 eintritt, während er bei Reizserien erst bei m/10^4 zu beobachten ist. Auch bei der Di- und Trichloressigsäure ist die „Förderung" bei Dauerreizung schon in höheren Konzentrationen zu beobachten (m/10^2 und m/10^4 gegen m 10^5 und m/10^9 bei Reizserien). Wenn auch bei der Monobromessigsäure indifferentes Verhalten und Hemmung des VM, die als normale Streuung aufzufassen sind, auftreten, kann die Vergrößerung der mittleren Hubhöhe des VM bei m/10^6 angenommen werden, während sie bei Reizserien erst bei m/10^8 auftritt. Wie bei den Reizserien erst in sehr dünnen Lösungen (m/10^{11}) der Dibromessigsäure eine „Förderung" festgestellt wurde, so beobachtet man eine solche auch bei den Dauerreizen erst bei m/10^{11}. Umgekehrt bewirken bei der Tribromessigsäure schon stärkere Lösungen beim Dauerreiz (m/10^3) und bei Reizserien (m/10^4) eine Vergrößerung der mittleren Hubhöhe. Von der Monojodessigsäure liegen uns nur Dauerreizungen mit m/10^{11} vor. Bei dieser Konzentration sind bei den Reizserien schon Vergrößerungen der Hubhöhe zu beobachten und auch bei den Dauerreizen ist neben einem Versuch mit indifferentem Verhalten des VM eine „Förderung" deutlich zu erkennen.

Wenn wir uns auch klar sind, daß zum Festlegen der Konzentration, bei der die Vergrößerung der Hubhöhen beginnt, ein größeres Zahlenmaterial nötig wäre, so nehmen wir doch an, mit unseren Versuchen das Prinzipielle der Wirkung der Halogenessigsäuren gezeigt zu haben.

C. Die Entwicklung einer Kontraktur bei der Einwirkung der Halogenessigsäuren.

Unter der Einwirkung der Halogenessigsäure kann es zur Veränderung im Kolloidzustand kommen, die sich in einer Zusammenziehung oder einer Dehnung des Muskels äußern. Diese Kontrakturen bzw. Dehnungen des Muskels wurden auf den Fußpunkt des ruhenden Muskels zu Beginn der Reizungen bezogen und in Prozenten der Hubhöhen zu Beginn des Versuchs ausgedrückt.

I. Monochloressigsäure (M.Chl.Ess.).

Nach einer anfänglichen Dehnung setzt in m/10 M. Chl. Ess. nach etwa 30 bis 45 Min. eine mäßig starke Kontraktur von 13 bis 79% ein (27. 9. 40. II, 30. 9. 40, 7. 11. 40. I). Bemerkenswert ist, daß sich die Kontraktur im Muskel weiter ent-

wickelt, wenn wir ihn aus der M. Chl. Ess. in Ringerlösung bringen. In Versuchen, in denen die Sartorien nur 50—65 Min. in m/100 Lösung verblieben, zeigte sich keine Kontraktur (26. 9. 40. I, 7. 11. 40. II, 11. 11. 40). Bei längerer Einwirkung der M. Chl. Ess. entwickelte sich dann — nach 100—120 Min. langer Einwirkung — aber ziemlich prompt eine rasch zunehmende Kontraktur bis rund 120% (Abb. 3). Auch in m/1000 M. Chl. Ess. war nach 140 Min. noch keine Kontraktur eingetreten (18. 10. 40. I); dagegen beobachtet man eine solche nach mehr als $3^1/_2$ Stunden langer Versuchsdauer (1. 12., 2. 12., 12. 12. 41). Im Höchstfall betrug die Kontraktur 117%. Trotz weiter fortbestehender Einwirkung der M. Chl. Ess. kann sich die Kontraktur nach sehr langer Zeit ($9^1/_4$ Std.) wieder etwas lösen. Bei m/10000 (4., 5., 8., 9., 11. 12. 41) und m/100000 (10. 12. 41) konnten wir selbst bei 9stündiger Versuchsdauer keine Kontraktur mehr beobachten.

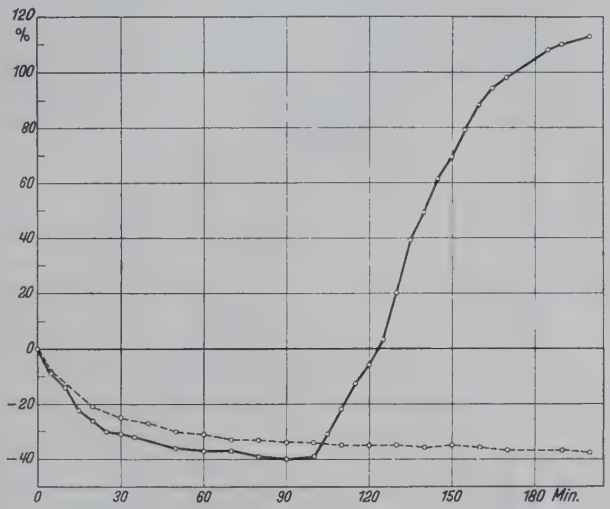


Abb. 3. Die Ausbildung einer Kontraktur unter der Einwirkung von m/100 monochloressigs. Na auf den Froschsartorius (Versuch vom 28. 11. 1941). Abszisse: Zeit; Ordinate: Kontraktur in Prozenten der Anfangshubhöhe (= 100%); ——— = Versuchsmuskel; — — — = Kontrollmuskel.

II. Dichloressigsäure (Di-Chl. Ess.)

In der m/10 Di-Chl. Ess. tritt eine kaum meßbare Kontraktur (29. 10. 40. IV) und im langdauernden Versuch (390 Min.) eine solche von 37% auf (9. 1. 42). In zwei weiteren Versuchen mit m/10 konnte keine Kontraktur beobachtet werden. Auch bei den Versuchen mit m/100 blieb in 5 Versuchen (5. 11. 40. I, II, 26. 11. 40, 30. 10. 40. II, 15. 12. 41) eine Kontraktur aus und nur in einem Versuch (16. 12. 41) betrug nach 430 Min. die Kontraktur 91%. Bei den weiteren 5 Versuchen mit m/1000 (31. 10. 40), m/10000 (1. 11. 40, 17., 18. 12. 41) und m/100000 (13., 14. 1. 42) trat dann keine Kontraktur mehr in Erscheinung.

III. Trichloressigsäure (Tri-Chl. Ess.)

In den Lösungen von m/10 bis m/1000 Tri-Chl. Ess. tritt selbst in 5—7stündigen Versuchen keine Kontraktur auf. Bei je einem Versuch mit m/10000 (21. 11. 40. II) und m/100000 (22. 11. 40. II) zeigte sich eine Kontraktur von 27 bzw. 10%. Der

KM im ersteren der beiden Versuche entwickelte ebenfalls eine Kontraktur von 11 %, weitere Versuche mit m/10000 (20. 11. 40. II) und m/100000 (26. 11. 40. II) ergaben wie auch die Versuche mit $m/10^6$ (15. 1. 42), $m/10^7$ (16., 19. 1. 42), $m/10^8$ (21. 1. 42) und $m/10^9$ (11. 2. 42) keinerlei Kontraktur.

IV. Monobromessigsäure (M.Br.Ess.)

In der m/10 M. Br. Ess. entwickelt sich vom Beginn der Einwirkung an eine starke Kontraktur (4. 10. 40. I: 95%, 4. 10. 40. II: 54%), während die in dieser Lösung erloschenen Kontraktionen in Ringerlösung wiederkehren, geht die Kontraktur weiter (auf 110 bzw. 73%). Dieses Weitergehen der Kontraktur in Ringerlösung ist auch bei den anderen Versuchen zu beobachten. Regelmäßig fanden wir die Ausbildung einer Kontraktur weiter noch bei Versuchen mit M. Br. Ess. m/100 (2 Versuche, Abb. 4), m/1000 (1 Versuch), m/10000 (2 Versuche). Keine Kontraktur beobachteten wir bei Versuchen mit $m/10^6$ (3 Versuche), mit $m/10^7$ (2 Versuche), $m/10^8$ (3 Versuche) und $m/10^{10}$. In der $m/10^6$ M. Br. Ess zeigte der Muskel in einem Fall (12. 11. 40.) eine Dehnung.

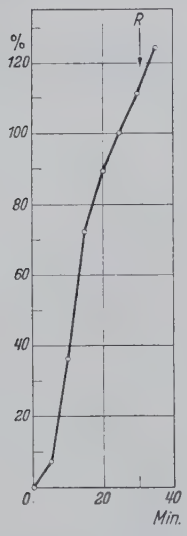


Abb. 4. Die Ausbildung einer Kontraktur unter der Einwirkung von m/100 monobroms. Na auf den Froschsartorius (Versuch vom 9. 10. 1940); Abszisse: Zeit; Ordinate: Kontraktur in Prozenten der Anfangshubhöhe (= 100%); Dehnung = Minusprozente. Bei R wurde der Muskel in Ringerlösung gebracht.

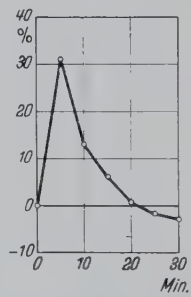


Abb. 5. Verlauf der kurzdauernden Kontraktur des Froschsartorius in m/10 tribroms. Na (Versuch vom 3. 12. 1940, V); Abszisse: Zeit; Ordinate: Kontraktur in Prozenten der Anfangshubhöhe (= 100%). Dehnung = Minusprozente.

V. Dibromessigsäure (Di-Br.Ess.)

In den höheren Konzentrationen m/10 (2 Versuche), m/100 (2 Versuche), m/1000 (2 Versuche) und m/100000 (1 Versuch) tritt eine deutliche Kontraktur auf, und zwar in den höher konzentrierten Lösungen sehr rasch und bei m/1000 und m/100000 allmählich einsetzend und sich weiter entwickelnd (bis 154 und 175 bzw. 72%). Von $m/10^6$ (1 Versuch) an, bei $m/10^7$ (2 Versuche), $m/10^9$ (1 Versuch) und $m/10^{11}$ (2 Versuche) bleibt eine Kontraktur aus.

VI. Tribromessigsäure (Tri-Br.Ess.).

Im Gegensatz zu den Kontrakturen, die sich bei den bisher aufgeführten Substanzen stetig weiterentwickeln, selbst dann noch, wenn der Muskel in Ringer-

lösung gebracht wurde, ging in der m/10 Tri-Br. Ess. die rasch einsetzende Kontraktur — hauptsächlich in Ringerlösung (3. 12. 40. III) — rasch wieder zurück, und kann schließlich durch eine leichte Dehnung abgelöst werden (3. 12. 40. V, Abb. 5). In den übrigen Lösungen, so in m/100 (2 Versuche), m/1000 (1 Versuch) und m/10000 (2 Versuche) trat keine Kontraktur mehr ein.

VII. Monojodessigsäure (M. J. Ess.).

In der m 10 M. J. Ess. (24. 10. 40. I) setzt sofort, in der m/100 (23. 10. 40. I, 6. 11. 40. V) nach 5 Min., in der m/1000 (21. 10. 40) nach 10 Min. Einwirkung eine sehr rasch fortschreitende Kontraktur ein. Die Kontraktur in m/10000 M. J. Ess. (18. 10. 40. II, 6. 11. 40. IV), die nach 15—30 Min. langer Einwirkung einsetzt, entwickelt sich langsamer als bei den höheren Konzentrationen. Bei weiterer Verdünnung der Lösung auf $m/10^5$ (24. 10. 40. II), $m/10^7$ (25. 10. 40. I), $m/10^9$ (25. 10. 40. II), $m/10^{10}$ (25. 10. 40. III), $m/10^{11}$ (26. 10. 40), $m/10^{12}$ (30. 10. 40. I, 1. 11. 40. II, 5. 2. 42) und $m/10^{14}$ (6. 2. 42) konnte keine Kontraktur mehr beobachtet werden.

Tabelle 3.

Substanz	m/10^1	10^2	10^3	10^4	10^5	10^6	10^7	10^8	10^9	10^{10}	10^{11}	10^{12}	10^{14}
Monochlor-essigsäure	+ (3)	+ (4)	+ **(3)**	– (5)	– (1)								
Dichlor-essigsäure	+ (2)	+ (1)											
	– (2)	– (5)	– (1)	– (3)	– (2)								
Trichlor-essigsäure				+ (1)	+ (1)								
	– (1)	– (3)	– (3)	– (1)	– (1)	– **(1)**	– (2)	– (1)	– (1)				
Monobrom-essigsäure	+ (2)	+ (2)	+ (1)	+ (2)									
						– (3)	– (2)	– (3)		– **(1)**			
Dibrom-essigsäure	+ (2)	+ (2)	+ (2)		+ (1)								
						– (1)	– (2)		– (1)		– (2)		
Tribrom-essigsäure	+ (2)												
		– (2)	– (1)	– (2)									
Monojod-essigsäure	+ (1)	+ (2)	+ (1)	+ (2)									
					– (1)		– (1)		– (1)	– (1)	– (3)	– (3)	– (1)

+ = Kontraktur; – = keine Kontraktur. Zahl der Versuche in Klammern.

Die Ergebnisse der Versuche stellten wir in der Tabelle 3 kurz zusammen. Daraus ersehen wir, daß die Chloressigsäuren sehr wenig Kontrakturen hervorrufen. Bei der Monochloressigsäure treten solche eindeutig noch bis zu m/1000 auf, bei der Dichloressigsäure kommen sie noch bis zu m/100 vor, sie bleiben aber auch schon bei m/10 in der Hälfte der Versuche aus. Ob die Trichloressigsäure überhaupt Kontrakturen erzeugt, ist fraglich, denn es erscheint uns doch unwahrscheinlich, daß die Kontrakturen nur bei relativ sehr dünnen Lösungen ($m/10^4$ und $m/10^5$) zustande kommen sollten. Eindeutig ist die Wirkung der Mono- und Dibromessigsäure, die bis $m/10^4$ bzw. $m/10^5$ Kontrakturen zustande bringen. Die Tribromessigsäure wirkt sehr viel schwächer. Eine recht starke Kontrakturwirkung besitzt dann wieder die Monojodessigsäure (bis $m/10^4$).

Vergleicht man die kontrakturauslösende Wirkung (Tabelle 3) mit dem Einfluß der Halogenessigsäure auf die Zuckungshöhe der Muskeln (Tabelle 1), dann ergibt sich folgendes: Bei der Monochloressigsäure treten von $m/10^4$ ab keine Kontrakturen mehr auf, dagegen beobachten wir bei dieser Konzentration eine Vergrößerung der Hubhöhen. Entsprechend haben wir bei der Dichloressigsäure Kontrakturen noch bis m/100, eine „Förderung" von $m/10^4$ an, bei der Monobromessigsäure bis $m/10^4$ und von $m/10^8$ (bei der Dauerreizung, Tabelle 2 schon von $m/10^6$) an, ähnlich bei der Dibromessigsäure Kontrakturen bis $m/10^5$ und „Förderung" bei $m/10^{11}$ gefunden. Die Tribromessigsäure wirkt nur schwach kontrakturerzeugend (m/10) und zeigt relativ bald ($m/10^4$) eine Erhöhung der Zuckungen. Umgekehrt treten bei der Monojodessigsäure noch bis zu $m/10^4$ Lösungen Kontrakturen auf, eine „Förderung" zeigt sich erst von $m/10^9$ an. Die Trichloressigsäure bewirkt keine Kontrakturen, und auch bei den Reizserien läßt sich nichts von einer „Förderung" erkennen; nur bei den Dauerreizen (Tabelle 2) beobachteten wir von $m/10^4$ ab eine prozentuale Vergrößerung der mittleren Hubhöhe. Abgesehen von der Trichloressigsäure geht aus dem Vergleich hervor, daß eine „Förderung" immer erst bei einer Konzentration eintritt, bei der keine Kontrakturen mehr beobachtet werden. Das erscheint ziemlich selbstverständlich, indem eben ein mehr oder weniger rigider Muskel seine Hubhöhe nicht vergrößern kann. Da bei den Versuchen gelegentlich in der Halogenessigsäure eine verstärkte Dehnung des Muskels aufgetreten ist, wäre es denkbar, daß die sogenannte „Förderung" mit dieser zusammenhängt (siehe Besprechung der Versuchsergebnisse). Von der Ausbildung einer Kontraktur unabhängig beeinflussen die Halogenessigsäuren die Erregbarkeit des Muskels. So kommt es vor, daß z. B. durch die m/10 Monobromessigsäure die Muskelzuckungen zum Erlöschen gebracht werden, sich gleichzeitig aber eine Kontraktur ausbildet. In Ringerlösung gebracht, schreitet diese weiter, während der Muskel auf Reize hin wieder erregbar wird.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Die Halogenessigsäuren hatten in unseren Versuchen in hohen Konzentrationen einen hemmenden Einfluß auf die Muskelkontraktionen, der sich in einem rascheren Abfall der Zuckungshöhen des Muskels gegenüber dem Kontrollmuskel zeigte. Wurden die Muskeln durch kurze Reizserien (Reizabstand 1 Sek.) mit dazwischenliegenden Ruhepausen gereizt, so zeigte sich (Tabelle 1), daß eindeutig die Monojodessigsäure die stärkste hemmende Wirkung auf die Muskelkontraktion besitzt, indem sie noch bei $m/10^7$ die Hubhöhen des Versuchsmuskels zum rascheren Abfall als beim Kontrollmuskel bringt. Bei den übrigen Halogenessigsäuren (Hal.-Ess.) ist eine eindeutig hemmende Wirkung noch bis zu einer Konzentration von $m/10^3$ zu beobachten. Ob hierbei die eine oder andere der Hal.-Ess.

schon bei m 10^2 aufhört wirksam zu sein oder etwa noch bei m 10^4 hemmt, ließe sich nur durch zahlreiche Versuche feststellen. Wesentliche Unterschiede in der Wirksamkeit bestehen sicher nicht, denn solche würden wir auch mit unserem Versuchsmaterial feststellen können. Auch beim Vergleich der Geschwindigkeit des Abfalls der Hubhöhen, z. B. in den m/10 Lösungen, ergeben sich keine wesentlichen Unterschiede, möglicherweise sind die Froschsartorien etwas weniger empfindlich gegen die m/10 Monochloressigsäure. — Bei den Versuchen mit Dauerreizung verwendeten wir keine m/10 Hal.-Ess., und von m/100 an trat bei keiner der untersuchten Stoffe eine eindeutige Hemmung auf.

Die Hal.-Ess. rufen in höheren Konzentrationen zum Teil Kontrakturen von erheblichen Ausmaßen hervor. Derartige Kontrakturen treten bei den verschiedenen Hal.-Ess. noch bis zu mehr oder weniger starker Verdünnung der Lösungen auf. Aus der Tabelle 3 ersieht man in bezug auf die Konzentration der Lösungen, daß die kontrakturerzeugende Wirkung bei den drei Chloressigsäuren schwächer ist als bei den entsprechenden Bromessigsäuren und der Monojodessigsäure. Von den Chlor- und Bromessigsäuren ist jeweils die Tri-Verbindung am schwächsten wirksam. Bei den Chloressigsäuren hat man den Eindruck, daß die Kontrakturgiftigkeit mit Zunahme der Zahl der Chloratome im Molekül abnimmt. Bei den Bromessigsäuren hat die Di-Bromverbindung annähernd gleich starke — möglicherweise sogar stärkere — Wirkung als die Monobromessigsäure, und erst die Tribromessigsäure fällt erheblich in der Wirksamkeit ab. Die Wirkung der Monojodessigsäure entspricht derjenigen der Monobromessigsäure.

Die Kontrakturen beginnen bei den verschiedenen Halogenessigsäuren nach verschieden langer Einwirkung. Einen Überblick über dieses Verhalten gibt Tabelle 4. In dieser Tabelle fällt zunächst auf, daß die Ein-

Tabelle 4. Zeitspanne vom Beginn der Einwirkung der Hal.-Ess. bis zum Einsetzen der Kontraktur.

Konzentration	Chloressigsäure			Bromessigsäure			Jodessigsäure
	Mono	Di	Tri	Mono	Di	Tri	Mono
m/10	30 Min.	1 Std.	—	0 Min.	0 Min.	0 Min.	0 Min.
m/100	2 Std.	5½ „	—	0 „	5—10 „	—	0—5 „
m/1000	4 „	—	—	0 „	0—10 „	—	5 „
m/10000	—	—	2 Std.	0—40 „		—	15—30 „
m/100000	—	—	4 „		2 Std.	—	—

wirkungsdauer der Mono- und Dichloressigsäure bis zum Beginn einer Kontraktur länger ist als bei den Bromessigsäuren und der Monojodessigsäure, bei denen in höheren Konzentrationen die Kontrakturen praktisch sofort einsetzen. Bei der Trichloressigsäure tritt eine Kontraktur in höheren Konzentrationen nicht auf. Warum bei dieser Halogenessigsäure ein Kontraktureffekt in m/10000 und m/100000 (je ein Versuch) auftritt,

können wir nicht erklären. Je dünner die Lösungen bei der Mono- und Dichloressigsäure sind, desto größer ist die Zeitspanne bis zum Eintritt der Kontraktur. Das gilt auch für die Mono- und Dibromessigsäure und die Monojodessigsäure.

Auffallend ist das Verhalten des Muskels in m/10 Tribromessigsäure. Die sofort einsetzende Kontraktur beginnt sich schon nach 5 Min. langer Einwirkung in der Halogenessigsäure rasch wieder zu lösen. Ob dieses Verhalten des Muskels eine echte Kontraktur des Muskels darstellt, oder ob es sich hier um eine Reizwirkung, die mit dem Ausgleich der Lösung zwischen Umgebung und Innern des Muskels abklingt, läßt sich durch unsere Versuche nicht entscheiden.

Eingehend wurde schon in dieser Mitteilung darauf hingewiesen, daß bei den verschiedenen Halogenessigsäuren in höheren Verdünnungen vielfach der Versuchsmuskel von Reizserie zu Reizserie langsamer abfällt als der Kontrollmuskel. Auch zeigte sich, daß bei Dauerreizen der Versuchsmuskel in stark verdünnten Halogenessigsäuren eine größere mittlere Hubhöhe besitzt als der Kontrollmuskel, d. h. aber, daß die Zuckungshöhe langsamer abnimmt als beim Kontrollmuskel. Worauf diese Erscheinung beruht, läßt sich auf Grund unserer Versuche nicht entscheiden. Eine „fördernde" Wirkung konnte bei der Trichloressigsäure bis zu einer Konzentration von $m/10^9$ in den Versuchen mit Reizserien nicht beobachtet werden; in den Versuchen mit Dauerreizung blieb die Hubhöhe des Versuchsmuskels schon bei $m/10^4$ höher als beim Kontrollmuskel. Bei den übrigen Halogenessigsäuren tritt diese Wirkung im allgemeinen unmittelbar an die um eine Zehnerpotenz konzentriertere, noch schädigende Konzentration auf. So beobachtet man eine Förderung bei den Chloressigsäuren schon bei $m/10^2$ bis $m/10^4$, bei den Bromessigsäuren $m/10^3$ bis $m/10^{11}$ und bei der Monojodessigsäure bei $m/10^9$ bis $m/10^{11}$. Demnach würden die Chlor- und die Tribromessigsäuren in relativ konzentrierten, die übrigen in stark verdünnten Lösungen „fördernd" wirken. Irgendeine eindeutige Gesetzmäßigkeit in der Wirkung der Halogenessigsäuren läßt sich also in diesem Zusammenhang nicht erkennen.

Wenn die Hal.-Ess. durch ihren Einfluß auf den Kohlehydratstoffwechsel die Kontraktionshöhen zu beeinflussen vermögen, und man kann wohl mit Lundsgaard (1930, S. 164) annehmen, daß dies bei allen Hal.-Ess. in ähnlicher Weise wie bei der Monojodessigsäure der Fall ist, so stellt man sich die Frage, welche Faktoren einen Unterschied in der Wirkung der verschiedenen Hal.-Ess. bedingen können. Wenn der Wirkungsgrad von der Art und Zahl der Halogenatome im Molekül (die nicht abdissoziiert sind) abhänge, müßte man eine deutliche Steigerung oder Abnahme der Wirkung mit der Zunahme der Zahl der Cl- und Br-Atome im Molekül erwarten. Das ist aber, wenn wir das raschere Abfallen der Kontraktionshöhen ins Auge fassen, nicht der Fall. Auch ist nach unseren Versuchen die Wirkung auf die Kontraktionshöhen der Chlor- und Bromessigsäuren

annähernd gleich und deutlich schwächer als die der Monojodessigsäure. Bei der Ausbildung der Kontraktur läßt sich allenfalls eine abnehmende schädigende Wirkung der Chloressigsäuren mit zunehmender Zahl der Chloratome erkennen. Daß auf die Kontraktur im großen und ganzen die Chloressigsäuren etwas schwächer wirken als die übrigen Hal.-Ess. — im Gegensatz zu der Wirkung auf die Kontraktionshöhe —, kann höchstens ein weiteres Anzeichen dafür sein, daß die Vorgänge, die zu einer Kontraktion und diejenigen, die zu einer Kontraktur führen, verschiedene sind. Im übrigen fanden wir im Gegensatz zu Pohl (1888) die Wirkung der Monobrom- und Monojodessigsäuren, wie auch Lundsgaard (1930), annähernd gleich stark. Eine Beziehung zwischen dem Wirkungsgrad und dem Molekulargewicht der einzelnen Halogenessigsäuren besteht nicht. Es könnte bei der geringen Verschiedenheit der Wirkung auch der verschiedene Dissoziationsgrad der verschiedenen Halogenessigsäuren von Einfluß sein. Die Dissoziationskonstanten sind für:

Monochloressigsäure	$1{,}55 \cdot 10^{-3}$
Dichloressigsäure	$5{,}0 \cdot 10^{-3}$
Trichloressigsäure	$2{,}0 \cdot 10^{-1}$
Monobromessigsäure	$1{,}38 \cdot 10^{-3}$
Monojodessigsäure	$7{,}5 \cdot 10^{-4}$

Würde ein Zusammenhang zwischen dem Dissoziationsgrad und der Wirkung bestehen, dann müßte eine bestimmte Wirkung in der Richtung von der Trichloressigsäure über die Dichloressigsäure und noch weiter nach der Monojodessigsäure zu- bzw. abnehmen. Weder die hemmende noch die „fördernde" Wirkung auf die Zuckungshöhe bei den Reizserien und bei den Dauerreizen läßt eine derartige Richtung erkennen. Auch bei der Ausbildung der Kontraktur ist eine Beziehung zwischen Dissoziation und Wirkung nicht — mindestens nicht eindeutig — zu erkennen (Tabelle 3). Bei der stärksten Dissoziation (Trichloressigsäure) haben wir zwar keine Wirkung und bei der geringsten Dissoziation (Monojodessigsäure) eine recht erhebliche; aber eine ebenso starke Wirkung besitzt auch die Monobromessigsäure, die weit stärker dissoziiert ist.

Wir können für die — wenn auch nur geringen — Unterschiede in der Wirkung der Hal.-Ess. zur Zeit also noch keine Deutung geben.

Bei dem relativ langsamen Abfallen der Hubhöhen in den verschieden stark verdünnten Hal.-Ess. kann es sich möglicherweise um ein Eingreifen der betreffenden Substanzen in den Muskelstoffwechsel handeln. Wir wissen ja, daß unter der Einwirkung der Monojodessigsäure die Bildung der Milchsäure ausbleibt. Die Möglichkeit besteht also, daß die Halogenessigsäuren in die chemischen Prozesse bei der Muskelkontraktion in der Weise eingreifen, daß die die Kontraktion erzeugende Substanz länger als normal bestehen bleibt. Normalerweise würde sie sofort nach Entstehen — ja zum Teil schon während der Bildung — wieder abgebaut werden. Ein längeres Bestehenbleiben der Kontraktionssubstanz würde zu einer

Vergrößerung der Hubhöhen führen. Diese Deutung gibt auch Frey (1939) für die Förderung der Muskelzuckung durch Alkohol. Ein Eingreifen der Hal.-Ess. in diesem Sinne würde aber bedeuten, daß die „Förderung" letzten Endes einer Hemmung gleichkäme. Ein Vergleich des Zuckungsablaufes von beeinflußtem und Kontrollmuskel in Schleuderkurven wird uns in dieser Hinsicht vielleicht etwas weiter bringen. — Die Hal.-Ess. könnten nun weiterhin noch auf den kolloidalen Zustand einen Einfluß haben. Wenn wir uns die Muskelkontraktion dadurch zustande kommen denken, daß sich kettenförmige Eiweißmoleküle durch mehr oder weniger zahlreiche Ringbildung verkürzen, dann könnten die Hal.-Ess. hier eingreifen. So könnte man sich vorstellen, daß unter dem Einfluß der Hal.-Ess. diese Eiweißmolekülketten sich besonders weitgehend strecken. Dafür spricht auch die Beobachtung, daß in den Halogenessigsäuren einige Muskel eine stärkere Dehnung zeigten. Derartig gedehnte Muskel sind nun aber in der Lage, sich stärker zu verkürzen als Kontrollmuskeln mit einem größeren Tonus. Die Wirkung der Halogenessigsäure würde hier also auch eine Schädigung, durch Herbsetzung des Muskeltonus, bedeuten. — Schließlich muß man noch die Möglichkeit zugeben, daß die Halogenessigsäuren in irgendeiner Weise — etwa durch Beeinflussung des Muskelstoffwechsels — eine wirkliche Förderung der Muskelkontraktion bewirken.

Bei der Ausbildung einer Kontraktur müssen wir auch an die Möglichkeit der Bildung einer Cholinverbindung denken, da ja nach den Untersuchungen von Schwartz und Oschmann (1924/25) und von Lundsgaard (1930) eine Säurekontraktur abzulehnen ist. Es könnte eine dem Azetylcholin entsprechende Verbindung der Hal.-Ess. mit dem Cholin des Muskels entstehen. Für die Entstehung des Azetylcholins aus Na-Acetat im Muskel hat Le Heux (1921) Beweise erbracht. Wenn derartige mit den Hal.-Ess. entstehenden Verbindungen andere Eigenschaften besitzen, also z. B. nicht in jedem Fall so prompt und in Ringerlösung noch weiter wirksam sind, dann spricht das nicht gegen diese Möglichkeit. Eine Klärung könnte geschaffen werden durch die Untersuchung der Wirkung der verschiedenen Hal.-Ess.-Cholin-Ester auf den Muskel und des Einflusses von Physostigmin auf den Grad der Wirksamkeit der Hal.-Ess. Möglicherweise hängt auch die „Förderung" mit der Bildung eines Hal.-Ess.-Cholin-Esters zusammen.

Zusammenfassung.

1. Es wurde die Wirkung verschieden molarer Lösungen der Na-Salze der Mono-, Di-, Trichlor-, der Mono-, Di-, Tribrom- und der Monojodessigsäure auf die Zuckungshöhe der Sartorien von *Rana temporaria* bei Serien- und Dauerreizen mit übermaximalen Öffnungsinduktionsströmen untersucht und die Ausbildung einer Kontraktur beobachtet.

2. Eine Schädigung des Muskels, die sich in einem rascheren Abfall der Hubhöhen des Versuchsmuskels im Vergleich zum Kontrollmuskel zeigt, beobachtet man in höher konzentrierten Halogenessigsäuren:

3. Die stärkste schädigende Wirkung übt die Monojodessigsäure aus, während die übrigen Halogenessigsäuren annähernd gleich stark wirksam sind.

4. In stärker verdünnten Lösungen der Halogenessigsäuren fällt in zahlreichen Versuchen die Hubhöhe des Versuchsmuskels langsamer ab als die des Kontrollmuskels.

5. Die „fördernde" Wirkung der Halogenessigsäuren tritt im allgemeinen bei den Versuchen mit Reizserien erst in etwas stärker verdünnten Lösungen auf als bei den Dauerreizen. Bei den Mono-, Dibrom- und der Monojodessigsäure beobachteten wir diese „Förderung" bei stärker verdünnten Lösungen als bei den übrigen Halogenessigsäuren.

6. In stärker konzentrierten Lösungen der Halogenessigsäuren treten Kontrakturen auf. Bei Mono-, Dibrom- und Monojodessigsäure ist die Kontrakturgiftigkeit am größten, bei Trichloressigsäure fehlt sie und bei der Tribromessigsäure ist sie von ganz kurzer Dauer.

7. Es kann keine eindeutige Beziehung zwischen dem Wirkungsgrad und der Art und Zahl des Halogens, dem Molekulargewicht oder der Dissoziationskonstante gefunden werden.

Literaturverzeichnis.

Frey, E.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 621—627 (1939). — Le Heux, J. W.: Pflügers Arch. **190**, 280—300 (1921). — Lundsgaard, E.: Biochem. Z. **217**, 162—177 (1930). — Pohl, J. Naunyn-Schmiedebergs Arch. **24**, 142—150 (1888). — Schwartz, A., u. A. Oschmann: C. r. Soc. Biol. **91**, 275—277 (1924); ebenda **92**, 169—172 (1925).

Aus der Pharmazeutischen Abteilung der Byk-Guldenwerke, Oranienburg bei Berlin.
(Leiter: Dr. Peter Marquardt.)

Über blutdrucksenkende Wirkungen beim Abbau des Adrenalins als eine allgemeine Eigenschaft der Phenolgrundskelette*.

Von

Peter Marquardt.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 2. Januar 1942.)

Bei den Untersuchungen über die Stufen der oxydativen Adrenalinzerstörung sind immer wieder Befunde mitgeteilt worden, aus denen hervorgeht, daß beim Abbau des Adrenalins außer dem Adrenochrom (oder besser nach dem Adrenochrom) noch blutdrucksenkende Substanzen in Erscheinung treten. Die älteste derartige Mitteilung stammt noch aus der Zeit vor der Isolierung des Adrenalins, und zwar hat 1897 Gürber (1) durch Erhitzen der Nebenniere im Bombenrohr blutdrucksenkende Extrakte aus dieser Drüse gewonnen. Es schien daher von Bedeutung nachzuprüfen, ob nicht durch Erhitzen eine blutdrucksenkende Substanz aus dem Adrenalin zu erhalten ist, um festzustellen, ob der Befund Gürbers auf dieses fragliche Adrenalinabbauprodukt zu beziehen ist, oder auf andere bekannte blutdrucksenkende Substanzen dieser Drüse. Die Vermutung, daß dieser Stoff aus Adrenalin entstehen könnte, lag nahe, da es mir einmal gelang, durch Schmelzen des Adrenalins mit Bernsteinsäure einen blutdrucksenkenden Stoff zu erhalten, den ich allerdings nicht reproduzieren konnte (2).

Auf Grund dieser Überlegungen wurde Adrenalin, teils offen, teils im Bombenrohr, erhitzt (5 Stunden auf 150°) und teils mit Wasser, teils mit Alkohol aufgenommen. Die Versuche ergaben, daß die wässerigen und die alkoholischen Extrakte einen senkenden Stoff enthalten, der allerdings bei der Aufnahme in Wasser (s. Abb. 1) nicht so anhaltend wirkt. Weiter ergab sich aus den Versuchen, daß das Erhitzen im Bombenrohr dem Erhitzen über offener Flamme gleichkommt. Der Zusatz eines Reduktions-

* Herrn Prof. W. Heubner zum 65. Geburtstag.

mittels, wie Cystein, um den oxydativen Abbau schonender zu gestalten, ist wirkungslos (s. Abb. 1 in Verbindung mit Tabelle 1).

Abb. 1. Carotisblutdruckversuch. Kaninchen 3,3 kg. Hg-Manometer. Zeitschreibung 4 Sekunden. Urethannarkose. Atropin 9 mg.

Abb. 2. Bei 1 0,2 ccm, bei 2 0,4 ccm, anschließend Tod.

Berechnet man die Menge des wirkenden Stoffes in mg des aus der Ausgangsmenge angewandten Adrenalins, wobei man sich darüber klar sein muß, daß es als Adrenalin sicher nicht mehr vorliegt, so ergibt sich:

1 ccm Lösungsmittel = 20 mg Adrenalin
0,1 „ „ = 2 „ „

Tabelle 1.

Versuch	Aufnahme-flüssigkeit	Erhitzungsart	Dosis ccm
14	Wasser	Bombenrohr	0,2
15	Alkohol*	offen	0,3
16	Wasser	„	0,3
17	Alkohol	„	0,3
18	Wasser	„	0,4
19	„	„	0,75
20	Alkohol	„	0,3
21	„	Bombenrohr	0,3
22	„	„	0,3

* 95 % Alkohol.

Die Dosis von 0.1 übt bereits eine deutliche Wirkung aus (s. Abb. 2).

Eine größere Menge dieser Substanz führt zum Tode des Tieres im Kollaps (Abb. 2).

Die in Wasser aufgelösten Produkte zeigen gelegentlich allerdings noch eine blutdrucksteigernde Wirkung und sind überhaupt physiologisch

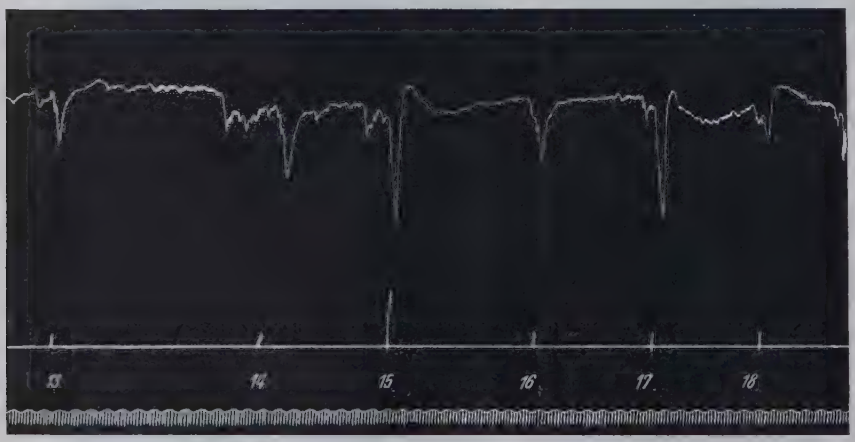


Abb. 3. Carotisblutdruckversuch. Kaninchen 3,7 kg. Urethannarkose. Atropin 9 mg.

nicht so einheitlich wie die alkoholischen Lösungen. Es zeigte sich, daß hier Zersetzungen, kenntlich an Ausfällungen, auftreten, daß aber frische wässerige Lösungen sich nicht von den alkoholischen unterscheiden.

Der so in der Hitze aus Adrenalin gewonnene blutdrucksenkende Stoff ist außer in Wasser und Alkohol auch noch in Glycerin und Chloroform löslich (s. Abb. 3 in Verbindung mit Tabelle 2). In diesem Versuch wurde außer den zu prüfenden Lösungen auch Azetylcholin zum Vergleich injiziert.

Tabelle 2.

Nr.	Art des Versuches	Menge	Lösungsmittel
14	Adrenalin offen erhitzt auf 150° in Wasser aufgenommen	0,1 ccm, 2 mg*	Wasser
15	Azetylcholin	1 mg	
16	Adrenalin offen erhitzt auf 150° Chloroformextrakt; danach Chloroform abgedampft	0,1 ccm, 20 mg*	Wasser
17	Azetylcholin	1 mg	
18	Adrenalin offen erhitzt auf 150° in Glycerin aufgenommen	0,1 ccm, 2 mg*	Glycerin

* Die mg-Zahl entspricht der Ausgangsmenge Adrenalin.

Der ohne Vorsichtsmaßregel über Monate aufgehobene stabile Extrakt wurde ebenfalls mit Azetylcholin verglichen. Die Resultate sind der Abb. 4 und der Tabelle 3 zu entnehmen.

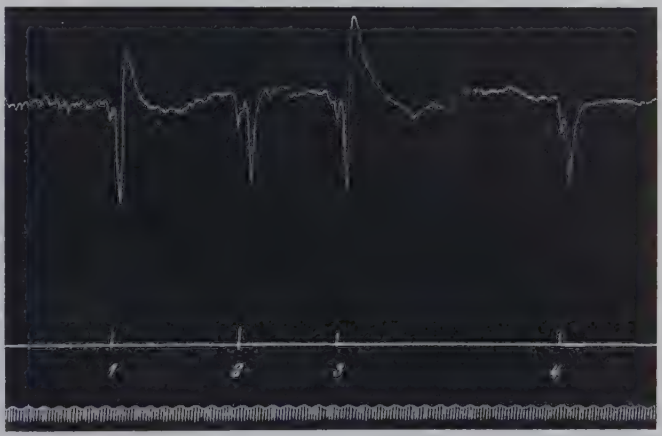


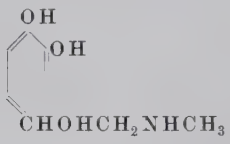
Abb. 4. Carotisblutdruckversuch am Kaninchen, 3,7 kg. Urethannarkose. 9 mg Atropin.

Tabelle 3.

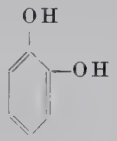
Nr.	Art der Versuchslösung	mg
1	Azetylcholin	1
2	Adrenalin offen erhitzt auf 150° in Alkohol aufgenommen	2*
3	Azetylcholin	1
4	Wie 2	2*

* Die mg-Zahl entspricht der Ausgangsmenge Adrenalin.

Es wurden daraufhin Versuche gleicher Art mit Brenzkatechin, dem Grundstoff des Adrenalins, unternommen und es zeigte sich, daß sowohl erhitztes wie unerhitztes Brenzkatechin in der gleichen Größenordnung den Blutdruck senkte (s. Abb. 5). In der abgebildeten Kurve sind 50 γ Brenzkatechin injiziert worden, der eine Adrenalininjektion von ebenfalls 50 γ zur Prüfung des Tieres vorangestellt wurde.



Adrenalin



Brenzkatechin

In weiteren Versuchen zeigte sich, daß eine mehr oder weniger, aber im ganzen ziemlich gleichmäßige blutdrucksenkende Wirkung eine allgemeine

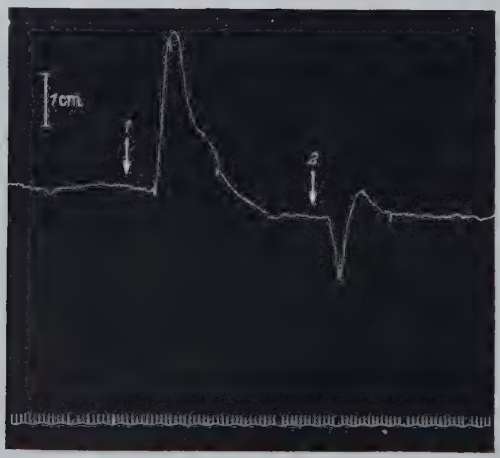


Abb. 5. Carotisblutdruckversuch am Kaninchen, 4,53 kg. Urethannarkose. 9 mg Atropin. Hg-Manometer. Zeitschreibung 5 Sekunden. Bei 1 50 γ Adrenalin, bei 2 50 γ Brenzkatechin.

Eigenschaft aller Phenolgrundskelette ist. Eine Erhitzung (bzw. Chinonisierung) ist auf diese Wirkung fast ohne Einfluß*. Ausführliche Untersuchungen dieser Eigenschaft in Beziehung zum Adrenalinaufbau und -abbau sind im Gange. Die bisher abgeschlossenen Untersuchungen zeigen, daß die eingangs zitierten Befunde von Gürber in der Hauptsache auf Adrenalin

* Untersucht wurde bisher: Phenol, Brenzkatechin, Resorcin, Hydrochinon, Pyrogallol, Phloroglucin. Die Untersuchungen über diese Körper müssen einer späteren Veröffentlichung vorbehalten bleiben.

zu beziehen sind, und daß durch Abspalten der Seitenkette die blutdrucksteigernde Wirkung verlorengeht, und die blutdrucksenkende Wirkung des Grundkörpers in Erscheinung tritt. So ist es nicht verwunderlich, daß Verda, Kneer und Burge (3) aus Adrenalin durch Bestrahlung mit ultraviolettem Licht einen blutdrucksenkenden Körper erhielten. Ebenso erklärt sich mein eingangs kurz angeführter Befund (2), durch Schmelzen des Adrenalins eine Blutdrucksenkung zu erhalten. Auch hier wurde die Seitenkette abgespalten bzw. beschädigt.

Es möge in diesem Zusammenhang noch darauf hingewiesen werden, daß die biologisch bekannten adrenalinzerstörenden Phenolasen ebenfalls an der Seitenkette angreifen! [Blaschko, Richter und Schlossmann (4)]. Auch der von mir beschriebene Abbau des Adrenalins vermittels Bernsteinsäure (5) (6) (7) wird voraussichtlich an der Seitenkette angreifen.

Ob diese Befunde den Adrenoxin genannten Körper von Heirman und Bacq (8) erklären, die Adrenalin der Einwirkung von Tyrosinase aussetzten und hierbei ebenfalls zu einem blutdrucksenkenden Körper gelangten, muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

Ein Zusammenhang ist nicht unwahrscheinlich, denn Ungar und Parrot (9) fanden eine blutdrucksenkende Abbaustufe, die sie ebenfalls nach Heirman und Bacq als Adrenoxin bezeichnen. Wenn diese Autoren Adrenalin mit Magenstücken behandelten, gelang es ihnen, Adrenoxin noch in einer Größenordnung von $5 \cdot 10^{-6}$ nachzuweisen. Die Wirkung von Brenzkatechin ist in ähnlicher Größenordnung ebenfalls in der geschilderten Weise noch festzustellen.

In neuerer Zeit wurden adrenalinähnliche Körper beschrieben [Konzett (10)], die eine Blutdrucksenkung aufweisen. Diese Wirkung kann nach den hier mitgeteilten Befunden so gedeutet werden, daß diese Körper entweder schnell zum Grundkörper abgebaut wurden, dessen Wirkung sodann in Erscheinung tritt, oder so, daß die Seitenkette dieser Körper nicht ausreicht, um die Grundeigenschaft des Brenzkatechins zu verdecken. Ziel einer laufenden Untersuchung ist es, festzustellen, ob den Phenolen generell die gleichen anderen Eigenschaften zukommen, wie sie Konzett für die von ihm beschriebenen substituierten Körper festgestellt hat.

Zusammenfassung.

Frühere und eigene Befunde, die das Entstehen einer blutdrucksenkenden Substanz aus Adrenalin feststellen, lassen sich durch die Abspaltung der Seitenkette des Adrenalins und durch das Entstehen von

Brenzkatechin erklären. Es zeigte sich weiter, daß diese Blutdrucksenkung eine allgemeine Eigenschaft der Phenole ist.

Literatur.

1) Gürber: Münch. med. Wschr. 44. Jahrg., 1897; Physikalisch-medicinische Gesellschaft zu Würzburg, Sitzung vom 16. Juni 1897. — 2) Marquardt: Klin. Wschr. **18**, 287 (1939). — 3) Verda, Kneer u. Burge: J. Pharmacol. (Am.) **42**, Aug. 1931, S. 383—386 (Urbana, Univ. of Ill., Dep. of Physiol.) — 4) Blaschko, Richter u. Schlossmann: J. Physiol. (Brit.) **90**, 1 (1937). — 5) Marquardt: Klin. Wschr. **18**, 252 (1939). — 6) Marquardt: Ebenda **18**, 287 (1939). — 7) Marquardt: Z. exper. Med. **107**, 179 (1940). — 8) Heirman u. Bacq: C. R. Soc. Biol. **126**, 1264 (1937). — 9) Ungar u. Parrot: Ebenda **131**, 62 (1939). — 10) Konzett: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, 1. Heft (1940).

Aus der Kgl. Ung. Versuchsstation für Tierphysiologie und Fütterungslehre Budapest.

Über die Wirkung von Arsen auf das Knochenwachstum.

Von

Dr. med. **Harald v. Tangl**, Privatdozent.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 16. März 1942.)

Die zurückliegenden wissenschaftlichen Untersuchungen über die Wirkungen von Arsen haben in großen Zügen dargetan, daß es in außerordentlich kleinen Mengen gegeben für Wachstum und Zunahme der Tiere recht günstig ist, insbesondere daß die Knochen rascher wachsen und die Fettbildung eine Steigerung erfährt. Auch erwies sich eine ausgesprochene Wirkung auf die Felle der Versuchstiere, indem diese schöner, glänzender wurden als die von nicht mit Arsen behandelten Kontrolltieren. Obgleich Arsen angeblich von Tierzüchtern mit mehr oder minderem Erfolg auch angewandt wird, so überrascht es doch beim Sammeln der Belege über seine Wirkungen, wie außergewöhnlich alt und mangelhaft die mit wissenschaftlicher Gründlichkeit durchgeführten Versuche sind. Zuerst berichtete Roussin (1863), daß Kaninchen beim Verfüttern geringer Mengen von Calciumarsenat ein auffallendes Wachstum zeigen. Bereits erheblich umsichtiger ist der Versuch von Gies (1878), indem er seine Arsenuntersuchungen auf Kaninchen, 4 Hähne und 2 Schweine ausdehnte. Alle seine mit Arsen ernährten Tiere nahmen besser zu, allein die auffallendsten Veränderungen nahm er an den Knochen wahr; diese wurden länger, ihre Wand verdickte sich, und die Knochensubstanz wurde wesentlich dichter, so daß es weitaus schwieriger war, solche Knochen zu zersägen. Diesen experimentellen Ergebnissen schlossen sich die Erfahrungen Lardellis (1906), späterhin die Croces (1911) an. Diese beiden Forscher gaben ihren Versuchsratten kleine Mengen arsenhaltiger Quellwässer bzw. Fowlersche Lösung, worauf die Tiere besser wuchsen, stärker zunahmen und auch ihre Fettablagerung eine Steigerung erfuhr.

Im Schrifttum fand ich indessen keine Angaben für die Beantwortung der Frage, ob bei dem Arsenversuch zwischen Ernährung und Knochenwachstum eine Beziehung besteht. Leider unterließen die Verfasser der sich mit der Arsenwirkung befassenden Arbeiten zu erwähnen, bei welcher Nahrung ihre Versuchstiere während den Untersuchungen lebten. Mich selbst hingegen überzeugten anders eingestellte Versuche, daß die Wirkung von Arsen in hohem Maße von der Zusammensetzung der Nahrung abhängt. Zwecks Klarstellung dieser Frage entschied ich mich zu Versuchen an

Ratten, indem ich mir zu untersuchen vornahm, welche Veränderungen von kohlehydrat- bzw. eiweißreicher Nahrung bei wachsenden Tieren und gleichen Arsenmengen hervorgebracht werden. Es interessierte mich, ob auf die Wirkung verschiedener Nahrung hin in den Knochen der Ratten bemerkliche Unterschiede entdeckbar seien.

Zu meinen Versuchen wählte ich 24 Ratten von je etwa 40 g aus, die ich in 4 Gruppen teilte. Die Tiere hielt ich bei einer aus Weizen-, Roggen-, Gerste-, Hafer-, Mais- und Reisgrieß, Casein, Sonnenblumenöl, Salzgemisch Nr. 185, Futterkalk, Kochsalz und Dorschlebertran bestehenden Kost. Das Futter von Gruppe I und II machte ich durch Hinzumischen von Stärke kohlehydratreicher, das von Gruppe III und IV durch Zugabe von Casein eiweißhaltiger. Gruppe II und IV erhielten außerdem noch 0,00022 g ($^{22}/_{100}$ mg) Arsen in Form von Cuprisulfarsenit. Erwähnt sei noch, daß ich an zwei Rattengruppen einen Kontrollversuch durchführte, der den Zweck hatte, die Wirkung des in der Arsenverbindung enthaltenen Kupfers zu untersuchen, was ich durch Beobachtung der Wirkung der dem Kupferanteil entsprechenden Menge von Kupfersulfat auf das Wachstum der Tiere bewerkstelligte. Da ich aber zwischen den beiden Gruppen keine größere Abweichung feststellte, so berichte ich im nachstehenden über die Ergebnisse lediglich als Arsenwirkungen. Ich wog die Tiere der einzelnen Gruppen im ganzen und wiederholte die Wägungen wöchentlich. Der Versuch dauerte 6 Wochen. Die Ergebnisse werden in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1.

Zeit	Kohlehydratreiches		Eiweißreiches	
	Futter ohne Arsen	Futter mit Arsen	Futter ohne Arsen	Futter mit Arsen
	Gewichtszunahme in Gramm			
Am Anfang des Versuches	258	255	257	259
Ende der 1. Woche.....	320	344	321	327
„ „ 2. „	425	446	430	438
„ „ 3. „	524	543	538	546
„ „ 4. „	593	620	605	621
„ „ 5. „	704	729	719	752
„ „ 6. „	785	813	802	840

An obigen Daten ist deutlich zu ersehen, daß sowohl von den kohlehydrat- wie den eiweißreich ernährten Gruppen die mit Arsen gefütterten Gruppen die bessere Zunahme aufweisen. Am auffallendsten ist das Wachstum der eiweißreich ernährten Arsengruppe. Bei der Sektion der einzelnen Gruppen fiel es auf, daß die Fettablagerung der kohlehydratreich gefütterten Tiere eine reichliche ist, wogegen die eiweißreich versorgten Gruppen überhaupt nicht fett waren, auch ihre Muskulatur war nicht besonders entwickelt, somit lieferten hauptsächlich die Knochen den größeren Gewichtsunterschied. Obgleich ich auch in dieser relativ kurzen

Zeit in den Besitz beachtlicher Daten gelangte, so befriedigten mich die Ergebnisse dennoch nicht.

Nachdem ich gewahrte, daß die Arsenwirkung sich besonders reichlich bei Eiweißfütterung bemerkbar macht, entschloß ich mich zur Wiederholung des Versuchs an größeren Tieren, weil sich dann auch die Unterschiede wahrscheinlich in gesteigerterem Maße präsentieren würden. Diesmal verwandte ich zu meinem Versuche weiße Leghorn-, ungarische Hanfkorn- und rote Islandhühner, und zwar 1200 Tiere von je etwa 90 g. Ich teilte die Tiere in 3 Gruppen, indem ich darauf achtete, daß in jede Gruppe gleich viel Tiere dieser 3 Rassen gerieten. Gruppe I war die Kontrollgruppe, die das für Hühner allgemein verwandte Futter erhielt; das Eiweiß verhielt sich zur übrigen Nahrung wie 1 : 4. Die beiden anderen Gruppen bekamen um 10 % mehr tierisches Eiweißfutter, wodurch das Eiweißverhältnis 1 : 3 wurde. Zwischen den beiden eiweißreichen Gruppen bestand lediglich der Unterschied, daß die eine auch Arsen in Form von Cuprisulfarsenit erhielt. Von diesem bekamen die Tiere in den ersten 4 Wochen täglich und pro Kopf soviel, daß es 3,5 Hundertstel mg (0,035 mg) Arsen entsprach. Im zweiten Monat gab ich das Doppelte dieser Menge. Ich wog die Hühner jede Woche in Gruppen von je 10 Stück. Der Versuch dauerte 2 Monate. Das Durchschnittsgewicht der Tiere gestaltete sich wie folgt:

Tabelle 2.

Zeit	Kontrollgruppe	Mit mehr Eiweiß gefütterte Gruppe	Mit mehr Eiweiß und Arsen gefütterte Gruppe
	Gewicht in Gramm		
Am Anfang des Versuches	90	96	90
Ende der 1. Woche	98	115	150
„ „ 2. „	110	195	190
„ „ 3. „	210	210	280
„ „ 4. „	290	350	420
„ „ 5. „	360	390	560
„ „ 6. „	416	460	750
„ „ 7. „	510	610	920
„ „ 8. „	600	680	990

Beim Vergleichen dieser Zahlenwerte stellt man zwischen den einzelnen Gruppen sehr beträchtliche Gewichtsunterschiede fest. Wie es im allgemeinen auch zu erwarten war, wuchs die reichlich mit Eiweiß gefütterte Gruppe etwas besser; der Unterschied gegenüber der Kontrollgruppe beträgt 13 %. Sehr erheblich aber war die Abweichung zwischen den Gewichten der mit Arsen versorgten Tiere und denen der Kontrollgruppe, denn hier schwankte das Gewichtsplus um 65 % herum. Außerdem zeigte sich das Ergebnis auch in der Hinsicht in einer schöneren Form, als bei diesen Tieren nicht eine stärkere Muskulatur oder Fettbildung das auffallende war, sondern hauptsächlich die Knochenbildung, was auf den ersten

Blick festzustellen war. Auf diese Weise gelang es mir, an jungen Hühnern meine bei jungen Ratten erlangten Erfahrungen zu bereichern, indem es sich erwies, daß reichliche Eiweißversorgung junger, in der Entwicklung begriffener Organismen zu erheblichem Knochenwachstum führt. Beim genaueren Prüfen der einzelnen Tabellendaten gewahrt man, daß die

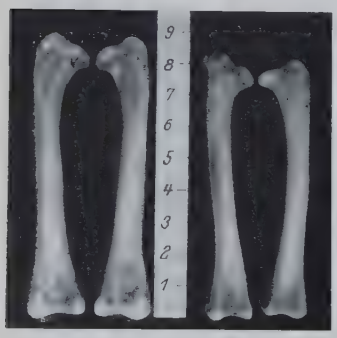


Abb. 1. Die Knochen der reichlich mit Eiweiß, jedoch mit und ohne Arsen versorgter Hühner.

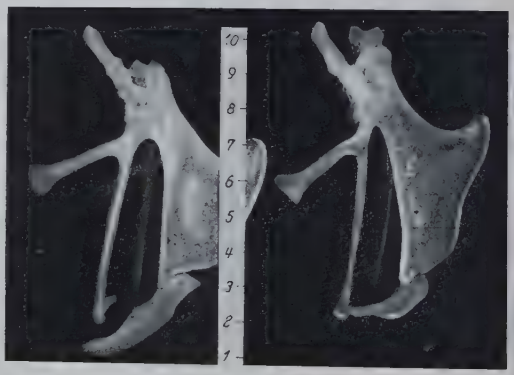


Abb. 2. Die Knochen der reichlich mit Eiweiß, jedoch mit und ohne Arsen versorgter Hühner.

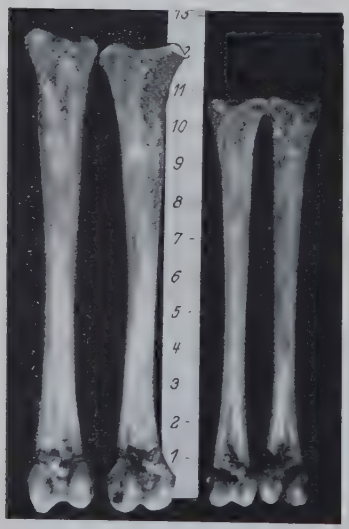


Abb. 3. Die Knochen der reichlich mit Eiweiß, jedoch mit und ohne Arsen versorgter Hühner.

Arsenwirkung sich bereits nach der ersten Woche meldet, nach zwei Wochen aber ist sie so augenfällig, daß man die Arsentiere von den anderen Hühnern durch den Blick allein zu unterscheiden vermag. Am Ende des zweiten Versuchsmonats mußte ich die Untersuchungen aus wirtschaftlichen Gründen leider beenden, zwecks genaueren Studiums aber behielt ich einige dem Durchschnittsgewicht entsprechende Tiere und beobachtete ihre weitere Entwicklung. Der Unterschied zugunsten der Arsengruppe blieb auch nachher bestehen. Schließlich schlachtete ich je ein Tier aus jeder Gruppe und kochte das Fleisch von den Knochengerüsten ab. Diese ergaben in getrocknetem Zustande: beim Kontrolltier 89, beim Huhn mit reichlicher Eiweißnahrung 95, bei dem mit viel Eiweiß und Arsen 126 g.

Die Unterschiede in der Knochengröße werden durch beigefügte Abbildungen in eindringlicher Form vor Augen geführt.

Diese Bilder ziehen einen Vergleich zwischen den Knochen reichlich mit Eiweiß, jedoch ohne und mit Arsen versorgter Tiere. Auch hier ist der Unterschied im Längenwachstum der beiden Gruppen in charakteristischer Form ausgeprägt, der bei solch großen Tieren noch augenfälliger in Erscheinung tritt.

Die an Hühnern gemachten Erfahrungen bestimmten mich zur Vornahme gleicher Versuche an Schweinen, die ich auf der k. ung. Tierphysiologischen Station durchführte. Ich wollte Auskunft darüber erhalten, ob Arsen in kleinen Mengen bei eiweißreicher Nahrung auf Frischlinge ähnlich wirkt wie auf Hühner, und ob diese Wirkung sich in der Knochenentwicklung der Tiere äußert. Auch bei diesen Versuchen verwandte ich als Arsenverbindung Cuprisulfarsenit, und zwar nach Maßgabe des Wachstums der Tiere in dauernd größeren Mengen. Von der pro Liter 2,17 g Arsen enthaltenden Lösung gab ich den Tieren pro kg Körpergewicht täglich 0.1 ccm auf die Weise, daß ich je die Hälfte davon dem Morgen- und Abendfutter beimischte. Zu den Versuchen verwandte ich Yorkshireferkel von 11—13 kg. Ich teilte die Tiere in 2 Gruppen, und zwar auf die Weise, daß in jede Gruppe 3 Tiere, davon 1 männliches und 2 weibliche, kamen. Das Futter hatte folgende Zusammensetzung: 20 % Mais, 25 % Erbsen, 25 % Weizen, 20 % Kleie, 10 % Fleischmehl und pro Kopf 1 kg Kalk und $^1/_2$ kg Kochsalz. Außerdem mischte ich täglich, mit Ausnahme der letzten Versuchstage, pro Kopf $^1/_2$ Liter abgerahmte Milch in das Futter. Der Nahrung von Gruppe II fügte ich morgens und abends auch die vorgeschriebene Menge Arsenlösung zu. Das Gewicht der Tiere wurde wöchentlich festgestellt. Die Gewichtszunahme der Gruppen ist folgende:

Tabelle 3.

Zeit	Kontrollgruppe kg	Versuchsgruppe kg
Am Anfang des Versuches.	35,3	37,1
Ende der 1. Woche.....	39,6	42,2
„ „ 2. „	47,4	53,0
„ „ 3. „	54,7	62,4
„ „ 4. „	67,0	73,6
„ „ 5. „	79,7	90,4
„ „ 6. „	93,3	102,9
„ „ 7. „	107,3	120,2
„ „ 8. „	123,7	138,2
„ „ 9. „	138,4	150,0
„ „ 10. „	153,8	171,0

Der Versuch dauerte 70 Tage. In dieser Zeit zeigte die Kontrollgruppe 118,5, die Versuchsgruppe 133,9 kg Gewichtszunahme, die Arsentiere waren also um 15.4 kg schwerer. Die Kontrollgruppe verbrauchte 283 kg Futter und 90 Liter abgerahmte Milch, die Arsengruppe von ersterem 308 kg und von letzterer 90 Liter. Danach fraß die Arsengruppe

um 25 kg mehr Futter. Die Körpergewichtszunahme und der Futterverbrauch erwiesen deutlich, daß die Arsentiere das gefressene Futter besser ausnutzten als die Kontrollferkel. Gegen das Versuchsende zu fiel es immer mehr ins Auge, daß in der Form der beiden Gruppentiere eine Abweichung zustande kommt. Die Arsentiere waren länger und ihre Bäuche hingen weniger herab. Zwecks genauer Bestimmung der Einzelmaße der Tiere beider Gruppen führten wir Messungen durch. In Tabelle 4 sind die Durchschnittsmaße der beiden Gruppen angeführt.

Durchschnittsmaße der Schweine in cm am Ende des Versuchs:

Tabelle 4.

Maße	Kontrollgruppe cm	Versuchsgruppe cm
Körperlänge	108,5	113,6
Rumpflänge	72,3	75,5
Widerristhöhe	51,7	51,7
Brustweite	23,2	22,7
Rumpfumfang	85,7	84,3
Beckenbreite	18,5	19,0
Bauchumfang	98,5	96,6
Beinumfang	14,0	14,3

Aus diesen Daten geht hervor, daß die Versuchstiere im Durchschnitt um 5,1 cm länger waren als die Kontrolltiere, wovon 3,2 cm auf den Rumpf entfallen. Dagegen war der Gürtel- und Bauchumfang bei den Kontrolltieren größer, vielleicht zufolge größerer Erschlaffung der Darmmuskeln, Fülle der Därme und Ausweitung der Bauchmuskeln.

Nach Beendigung des Versuchs ließ ich den Eber jeder Gruppe abschlachten, teils um die Gewichte der einzelnen Organe zu bestimmen, teils um das Fleisch von den Knochen abzukochen, damit das Gewicht des Knochengerüstes bzw. das Gewicht sowie der Umfang der wichtigeren Knochen bestimmt werden könne. Beim Wiegen der Organe erhielt ich folgende Zahlen.

Tabelle 5.

Organe	Kontrollgruppe kg	Versuchsgruppe kg
Leber	1,45	1,60
Lunge	0,35	0,45
Herz	0,25	0,25
Niere	0,22	0,25
Hoden	0,22	0,22

Herz und Hoden ausgenommen waren die Organe des Versuchstieres um 10—15% schwerer als die des Kontrollferkels.

Wir entfernten das Fleisch mit großer Umsicht vom Knochengerüst und trockneten völlig die sauberen Knochen im Trockenofen. Nach dem Wiegen und Messen der einzelnen wichtigeren Knochen erhielt ich folgende Zahlen (Tab. 6).:

Tabelle 6.

Knochenteile	Kontrollschwein		Mit Arsen gefüttertes Schwein	
	Gewicht der Knochen in g	Umfang der Knochen in Wasser ccm	Gewicht der Knochen in g	Umfang der Knochen in Wasser ccm
Ganzes Knochengerüst ...	2200		2750	
Ganzer Schädel	484		529	
Femur os	90,5	91,4	99,8	100,7
Humerus „	79,4	76,5	90,5	110,8
Tibia „	58,0	51,5	65,1	62,3
Fibula „	5,5	5,2	6,3	7,2
Radius „	30,7	37,0	35,6	40,2
Ulna „	27,4	28,3	31,0	26,2
Scapula „	48,3		52,8	
Ilium „	34,1	41,2	37,1	32,3
Ischii „	21,8	23,5	28,6	35,4

Zwischen den Knochengerüstgewichten beider Tiere ergab sich ein sehr erheblicher Unterschied, indem das des Kontrolltieres 2,2, das des Versuchstieres 2,75 kg betrug.

Außerdem ist ersichtlich, daß zwischen den einzelnen Knochen sowohl im Gewicht wie dem Umfange ziemlich beträchtliche Unterschiede obwalten. Jeder Knochen des mit Arsen gefütterten Schweines ist schwerer. Im allgemeinen ist auch im Umfange ein Wachstum zu beobachten, abgesehen von einzelnen Ausnahmen, in denen die Knochenwand sich in stärkerem Maße verdickte.

Die Versuchsergebnisse zusammengefaßt kann festgestellt werden, daß Arsenfütterung eine Wirkung auf das Wachstum von Schweinen hat. Beim Vergleichen der mit Versuchs- und Kontrolltieren gewonnenen Daten erweist es sich, daß die Entwicklung der Arsentiere eine raschere ist, weil ihre Freßlust größer ist, und das Futter besser ausgenutzt wird. Die bei Hühnern festgestellte Tatsache, daß die Arsenwirkung von der Futterbeschaffenheit abhängt, wurde durch den Versuch auch an Schweinen bestätigt. Von reichlich eiweißhaltiger Nahrung werden die Knochen von in der Entwicklung befindlichen Schweinen stärker als die der Kontrolltiere, was deshalb von Wichtigkeit ist, weil man darüber hinaus noch unter zusätzlicher Verwendung von Arsen in der Lage ist, den Tieren zu einer kräftigen Entwicklung der Knochen zu verhelfen, die bei der späteren Mast die Grundlage für die Ablagerung größerer Fettmengen abgeben.

Literatur.

Roussin, L.: J. Pharmacie et Chim. **43**, 102 (1863). — Gies, Th.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **8**, 175 (1878). — Lardelli, A.: Münch. med. Wschr. **3**, 2388 (1906). — Croce, S.: Z. klin. Med. **73**, 103 (1911). — Kramár u. Tomesik: Magy. Orv. Arch. **25**, 61 (1924).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Gießen.
(Direktor: Prof. Dr. F. Hildebrandt.)

Über die Zeit/Menge-Beziehungen bei der Auswertung von Strophanthin und Digitoxin an der Katze.

Von
F. Hildebrandt.

Mit einem Anhang: Mathematische Deutung der Ergebnisse.

Von
M. P. Geppert,
Leiterin der statistischen Abteilung des W. G. Kerckhoff-Institutes, Bad Nauheim

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 13. März 1942.)

Eingehende Untersuchungen über die Zeit/Menge-Beziehungen bei der Digitalisauswertung am Meerschweinchen hat neuerdings W. Straub (1) veröffentlicht. An der Katze sind derartige quantitative Untersuchungen bisher kaum durchgeführt, und so erscheint es mir gerechtfertigt, Versuche von Mügge, die vor Jahren in meinem Institut durchgeführt, aus äußeren Gründen aber nicht zum Abschluß gebracht werden konnten, nunmehr zu veröffentlichen. Ursprünglich waren die Versuche aus einer anderen Fragestellung heraus im Anschluß an Untersuchungen von Herre (2) über die Bindungsgeschwindigkeit von verschiedenen Digitalisglykosiden erster und zweiter Ordnung unternommen worden. Sie wurden in der Zwischenzeit noch etwas weiter ausgebaut und umfassen ein Versuchsmaterial von insgesamt 163 Katzen.

In seinen Versuchen an Meerschweinchen infundiert Straub (1) eine bestimmte Giftmenge mit konstanter Geschwindigkeit. Durch Variation der Giftkonzentration in der Infusionsflüssigkeit wird dabei ohne Rücksicht auf die allerdings nicht sehr erhebliche Variable des Tiergewichts die jeweils gewünschte Dosis zur Infusion gebracht. Wir haben in unseren Versuchen die zu infundierende Giftdosis pro kg errechnet und dann die Verdünnung so gewählt, daß die gewünschte Dosis in der Zeiteinheit zugeführt wurde. Die Versuche gestatten somit einen Vergleich der Zeit/Menge-Beziehungen an der Katze mit den von Straub am Meerschweinchen gewonnenen.

Die Katzen wurden mit Pernokton narkotisiert, der Blutdruck aus der Carotis geschrieben. Zur gleichmäßigen langsamen Infusion wurde eine Record-Spritze verwendet, deren Stempel durch einen von den Netzspannungen unabhängigen Synchronmotor eingedrückt wurde. Die Umdrehungen des Motors wurden durch

ein Schneckengewinde auf ein langsamgehendes Rad mit 4 Kontakten übertragen, deren Schluß sich durch ein elektrisches Signal auf dem Kymographion aufzeichnete. Eine Umdrehung des Rades drückte, wie Eichungen ergaben, 0,4307 ccm Flüssigkeit aus der Spritze heraus. Durch verschiedene Übertragungen konnte die Dauer einer Umdrehung zwischen 176 und 813 Sekunden variiert werden, entsprechend einer Förderung von 8,786 und 1,907 ccm auf die Stunde berechnet. Die Apparatur hat den Vorteil, daß man die Infusionswerte nicht an der Spritze selbst, sondern infolge der Übertragung der elektrischen Kontakte auf das Kymographion ablesen kann.

Strophanthin.

Als Infusionsgeschwindigkeit wählten wir das Intervall zwischen 4 und 0,02 mg/kg/Stunde, und zwar g-Strophanthin Merck mit einem Froschtiter von 0,000455 mg/g Frosch. Der Blutdruck wurde erst geschrieben, wenn durch Palpation festgestellt war, daß das Herz schwer vergiftet war. Der Abfall des Blutdrucks auf den Nullwert gestattete die genaue Festlegung des Herztodes und damit die genaue Zeit der Infusionsdauer und der eingelaufenen Giftdosis.

Sämtliche Versuchsresultate finden sich in der hier folgenden Tabelle 1.

Tabelle 1. g-Strophanthin. Froschtiter 0,000455 mg/g Frosch.

Dosierungsgeschwindigkeit mg/kg/St.	Anzahl der Versuche	Letale Dosis mg/kg			Zeit in Minuten		
		Mittel	Min.	Max.	Mittel	Min.	Max.
0,020	10	0,125	0,092	0,167	377	277	501
0,030	5	0,092	0,061	0,135	184	119	277
0,050	5	0,115	0,096	0,143	140	115	171
0,100	8	0,128	0,086	0,200	77	52	119
0,200	6	0,134	0,115	0,164	39	30	49
0,400	8	0,192	0,150	0,229	29	23	34
0,600	8	0,221	0,143	0,305	22	14	30
1,000	7	0,250	0,212	0,299	15	13	18
2,000	5	0,414	0,360	0,475	12	11	14
4,000	7	0,633	0,552	0,881	9	7	11

Aus ihr ist zu ersehen, daß es für g-Strophanthin zweifellos ein Optimum der Dosierungsgeschwindigkeit gibt, und daß dieses bei der sehr langsamen Infusionsgeschwindigkeit von 0.03, vielleicht auch noch 0.05 mg kg Stunde liegt. Die etwas höheren Dosierungsgeschwindigkeiten von 0.1 und 0.2 mg liegen in ihren Mittelwerten etwas höher, doch ist der Abstand verhältnismäßig klein vom Optimum der Dosierungsgeschwindigkeit. Von hier an geht es sprunghaft aufwärts, es wird also immer mehr „übertitriert" und bei der höchsten versuchten Dosis von 4 mg/kg St. wird das Sechs- bis Siebenfache des Optimums erreicht, allerdings tritt der Tod auch sehr schnell, bereits nach 9 Minuten ein. Der niedrigste Wert von 0.02 mg/kg/St. läßt schon eine gewisse Entgiftung des Strophanthins erkennen, denn der Mittelwert liegt einwandfrei höher als das Optimum von 0.03 mg/kg St.

Trotz größter Sorgfalt in der Auswahl des Tiermaterials und peinlich genauer Beachtung aller Versuchsbedingungen sind die Streuungen doch erheblich. Es muß allerdings bei dieser Generaltabelle berücksichtigt werden, daß ohne Ausnahme alle Versuche mitverwertet wurden, daß also auch die sogenannten „Ausbeißer" mitberücksichtigt sind. Bezüglich dieser „Ausbeißer" war es aber meistens so, daß in jeder Versuchsreihe — und es waren ja verhältnismäßig viele Versuche für jede Dosierung — ein stark nach unten abweichender Wert in der gleichen Versuchsreihe mit einem stark nach oben abweichenden zusammentrat, so daß der Mittelwert im ganzen betrachtet durch diese „Ausbeißer" keine Verschiebung nach oben oder unten erfuhr. Wurden die „Ausbeißer" herausgelassen, so ergab sich praktisch der gleiche Mittelwert wie mit „Ausbeißern".

Das „Übertitrieren" bei der Auswertung mit Strophanthin tritt also besonders bei den hohen Dosierungsgeschwindigkeiten in Erscheinung. Bei der Dosierung von 0,2 mg/kg/St., also der Geschwindigkeit, die auch bezüglich der Todzeit von etwa 40 Minuten gang und gäbe ist, wird nur ganz wenig „übertitriert", aber doch noch deutlich erkennbar. Die wahre Effektivdosis dürfte nach diesen Versuchen doch etwas tiefer liegen, und zwar bei der Dosierung von etwa 0,03 mg/kg/St., wobei sich allerdings die Infusionsdauer auf eine Zeit von 2—4 Stunden erstreckt.

Eine kurze Übersicht über die bisher vorliegende Literatur auf diesem Gebiet läßt erkennen, daß die Zeit/Menge-Beziehungen bisher noch nicht mit einer Genauigkeit festgelegt und erkannt sind, wie es wünschenswert wäre. v. Nyary (3) gibt anläßlich von Untersuchungen der Resorption verschiedener Digitalispräparate und auch Reinsubstanzen aus dem Darm an, daß eine Verlängerung der üblichen einstündigen Einströmungsdauer auf 3 Stunden keine deutliche Verschiebung der Hatcher-Dosis hervorgerufen habe. Die Unterschiede hätten dabei nicht mehr als 5—10% betragen, so daß sie noch innerhalb der Fehlergrenzen lagen. Als Mittelwert für g-Strophanthin gibt er 0,153 mg/kg Katze bei einer Versuchsdauer von 27—50 Minuten an. Die Vermutung, daß bei hoher Dosierungsgeschwindigkeit — wie sie bei der Hatcher-Titration üblich ist — „übertritriert" wird, wird von Mehnert (4) deutlich ausgesprochen. Er fand bei Verwendung von k-Strophanthin bei der Dosierungsgeschwindigkeit zwischen 0,008 und 0,35 mg ein Absinken der letalen Dosen mit sinkender Dosierungsgeschwindigkeit. Auch bei der langsamsten Infusionsgeschwindigkeit von 0,008 mg/kg/St. fand er noch keine Erhöhung der letalen Dosis als Zeichen einer Entgiftung im Gegensatz zu unseren Versuchen, die wie oben erwähnt, in diesem Bereich diesen Faktor deutlich erkennen lassen. Ich glaube, daß dies auf die verhältnismäßig geringe Anzahl der Versuche (6 im Bereich der Dosierungsgeschwindigkeit von 0,008—0,011 mg/kg/St.) zurückzuführen ist, denn nach unseren Erfahrungen ist die Streuung gerade bei diesen ganz langsamen Infusionen eine verhältnismäßig große. Bei intraarterieller Infusion von k-Strophanthin fand Lendle (5) bei den Dosierungsgeschwindigkeiten zwischen 0,037 und 0,17 mg/kg/St. praktisch die gleichen letalen Dosen, doch können diese Versuche mit unseren nicht direkt ver-

glichen werden, weil in seinen Versuchen mit intraarterieller Dauerinfusion die Peripherie gewissermaßen vorgeschaltet war.

Unsere Versuche füllen demnach eine gewisse Lücke aus, indem sie einwandfrei erkennen lassen, daß es für Strophanthin bei Anwendung einer ganz bestimmten Dosierungsgeschwindigkeit eine exakt faßbare minimale letale Dosis gibt. Bei Überschreiten der Dosierungsgeschwindigkeit wird in zunehmendem Maße „übertitriert", bei zu langsamer machen sich bereits Erscheinungen der Entgiftung bemerkbar.

Nun ist Strophanthin der typische Repräsentant der Digitaliskörper mit hoher Wirkungsgeschwindigkeit oder anders ausgedrückt, mit geringer Latenzzeit zwischen Bindung und voller Ausbildung des Wirkungsbildes. Der Antipode ist das Digitoxin, das wir in den nun folgenden Versuchen nach der gleichen Richtung hin untersuchten.

Digitoxin.

Die Schwierigkeiten der Festlegung der letalen Digitoxindosis waren bereits Hatcher und Brody (6) bekannt. Sie wählten deshalb den Ausweg, von diesem Reinglykosid nur einen Teil der vermutlichen Letaldosis zu infundieren und füllten nach einer gewissen Wartezeit mit dem schnell wirkenden Strophanthin auf. Zahlreiche spätere Arbeiten beschäftigen sich mit der Festlegung der Toddosis von Digitoxin, wobei vor allem die Kumulation im Vordergrund des Interesses stand.

Aus allen diesen Arbeiten geht die starke Abhängigkeit der letalen Dosis von der Infusionsgeschwindigkeit hervor. So beobachtete Lendle (5) bei intraarterieller Infusion ein Ansteigen der letalen Dosis von 0,177 bei der Dosierungsgeschwindigkeit von 0,03 mg/kg/St. auf 0,355 mg bei der Dosierungsgeschwindigkeit von 0,17 mg. Mehnert (4) fand ein Optimum von 0,18 mg/kg bei einer Zufuhr von 0,15 mg/kg/St. Schon früher hatten Fromherz und Welsch (7) festgestellt, daß bei der üblichen Titration für Digitoxin ein Wert von 0,41 mg/kg herauskam, andererseits aber schon nach Injektion von 0,19 mg noch 47 % der so behandelten Versuchstiere später eingingen. Diese ersten Versuche führten dann Fromherz und Bauer (8) (9) zu ihren bekannten Untersuchungen über die Spätwirkung des Digitoxins, die unsere Ansicht über die Kumulation grundlegend änderten. Auch Haferkorn und Lendle (10) fanden bei zweistündiger Wartezeit 0,25 mg Digitoxin/kg letal, während bei einzeitiger langsamer Infusion nach Magnus 0,36 mg als tödlich gefunden wurde.

In unseren Versuchen mit Digitoxin (wir verwandten Digitoxin Merck mit einem Froschtiter von 0,005 mg/g Frosch) lag, wie aus Tabelle 2 hervorgeht, die Infusionsgeschwindigkeit zwischen 0,05 und 2 mg/kg/St.

Im ganzen liegen 94 Versuche mit 9 verschiedenen Dosierungsgeschwindigkeiten vor. Die langsamste Infusionsgeschwindigkeit ergibt einen Mittelwert von 0,244 mg, wobei im Mittel der Tod nach 293 Minuten

Tabelle 2. Digitoxin. Froschtiter 0,005 mg/g Frosch.

Dosierungsgeschwindigkeit mg/kg/St.	Anzahl der Versuche	Letale Dosis mg/kg			Zeit in Minuten		
		Mittel	Min.	Max.	Mittel	Min.	Max.
0,050	6	0,244	0,180	0,314	293	216	377
0,100	7	0,411	0,356	0,474	247	214	285
0,200	14	0,386	0,248	0,610	118	74	184
0,300	18	0,471	0,358	0,619	93	72	111
0,400	16	0,515	0,267	0,743	77	40	107
0,600	9	0,632	0,482	0,916	60	48	92
1,000	8	0,766	0,582	1,022	47	35	61
1,500	9	1,035	0,810	1,409	41	32	56
2,000	7	1,040	0,845	1,192	31	25	36

eintrat. Bei den etwas höheren Dosierungsgeschwindigkeiten steigt die letale Dosis bereits erheblich an, um bei der schnellsten Infusionsgeschwindigkeit mehr als das Vierfache des geringsten Wertes zu erreichen. Noch langsamere Infusionsgeschwindigkeiten haben wir nicht geprüft. Es wird also, wie auch (s. oben) schon von verschiedenen Autoren hervorgehoben ist, mit Digitoxin sehr stark „übertitriert". Um den richtigen Wert zu erhalten, müßte die Dosierungsgeschwindigkeit noch tiefer liegen als in unseren Versuchen, ja beinahe zeitlos angewandt werden, doch kommt man dabei andererseits wieder in die Zone der Sekundärveränderungen im Herzen hinein.

Meiner Bitte, eine mathematische Deutung der kurvenmäßigen Ergebnisse durchzuführen, hat die Leiterin der statistischen Abteilung des Kerckhoff-Instituts, Bad-Nauheim, Frl. Dr. Geppert, im folgenden entsprochen.

Anhang.

Mathematische Deutung der Ergebnisse.

Von

M. P. Geppert,

Leiterin der statistischen Abteilung des W. G. Kerckhoff-Instituts, Bad Nauheim.

In Abb. 1 sind die Versuchsergebnisse der Strophanthin- und der Digitoxin-Versuchsreihe nach den Tabellen 1 und 2 graphisch dargestellt. Als Abszisse dient die Infusionsgeschwindigkeit x [mg/kg/St.], als Ordinate die entsprechende mittlere Infusionsdauer y [min] bis zum jeweiligen Herzstillstand. Durch geradlinige Verbindung benachbarter Beobachtungspunkte ergeben sich für die beiden Pharmaka zwei gebrochene Linienzüge, deren Lage und Gestalt sich aus den spezifischen Eigenschaften der beiden Substanzen erklären lassen.

Hätte nämlich die Größe der Infusionsgeschwindigkeit keinerlei Einfluß auf die Größe der letalen Dosis, d. h. wäre die aus der Infusionsgeschwindigkeit x und Infusionsdauer y mittels der Formel

$$z = \frac{x\,y}{60} \tag{1}$$

zu berechnende letale Dosis z [mg/kg] konstant, so müßte bei zunehmender Infusionsgeschwindigkeit x die Infusionsdauer genau umgekehrt proportional zu x abnehmen nach der Gleichung

$$y = \frac{c}{x}; \tag{2}$$

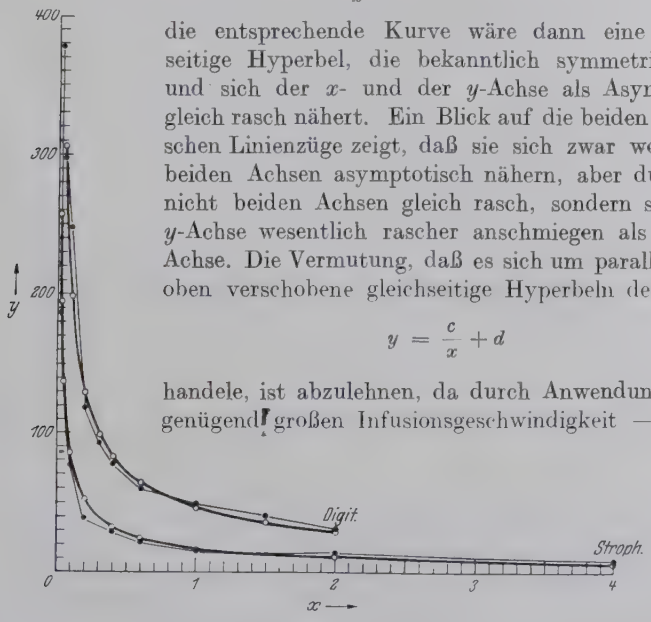


Abb. 1.

die entsprechende Kurve wäre dann eine gleichseitige Hyperbel, die bekanntlich symmetrisch ist und sich der x- und der y-Achse als Asymptoten gleich rasch nähert. Ein Blick auf die beiden empirischen Linienzüge zeigt, daß sie sich zwar wohl den beiden Achsen asymptotisch nähern, aber durchaus nicht beiden Achsen gleich rasch, sondern sich der y-Achse wesentlich rascher anschmiegen als der x-Achse. Die Vermutung, daß es sich um parallel nach oben verschobene gleichseitige Hyperbeln der Form

$$y = \frac{c}{x} + d$$

handele, ist abzulehnen, da durch Anwendung einer genügend großen Infusionsgeschwindigkeit — wobei die praktische Durchführbarkeit außer acht gelassen sei — sich die entsprechende Infusionsdauer schließlich doch beliebig verkürzen ließe.

Dagegen liegt die Vermutung nahe, daß es sich um Hyperbeläste allgemeinerer Form

$$y = \frac{c}{x^a} = \frac{c}{x^{1-\delta}} = \frac{c \cdot x^{\delta}}{x} \tag{3}$$

handele, welche sich tatsächlich für $a < 1$ oder $\delta > 0$ der y-Achse rascher nähern als der x-Achse (Abb. 2) und für $a = 1$, d. h. $\delta = 0$ die gleichseitige Hyperbel (2) liefern. Zur Bestätigung dieser Vermutung zeichnen wir die Wertepaare x, y auf doppelt-logarithmisches Papier ein (Abb. 3). Der

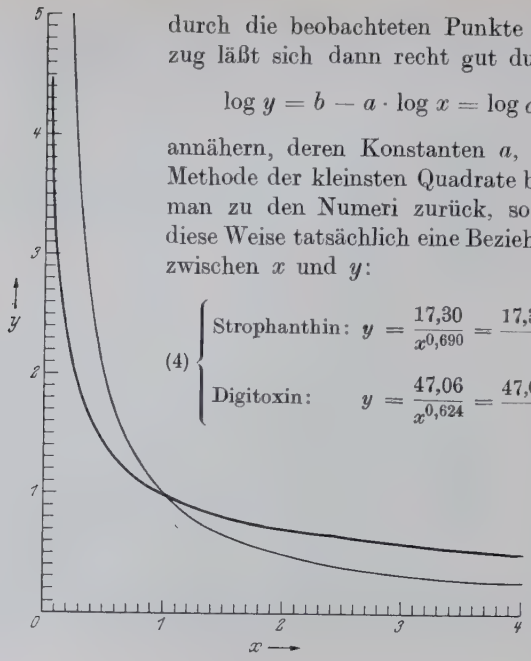


Abb. 2. $y = \frac{1}{x}$ und $y = \frac{1}{x^{0,5}}$.

durch die beobachteten Punkte gehende Linienzug läßt sich dann recht gut durch eine Gerade

$$\log y = b - a \cdot \log x = \log c - a \cdot \log x$$

annähern, deren Konstanten a, b sich nach der Methode der kleinsten Quadrate berechnen. Kehrt man zu den Numeri zurück, so erhält man auf diese Weise tatsächlich eine Beziehung der Form (3) zwischen x und y:

$$(4)\quad \begin{cases} \text{Strophanthin:} & y = \dfrac{17{,}30}{x^{0{,}690}} = \dfrac{17{,}30 \cdot x^{0{,}310}}{x} = \dfrac{c \cdot x^{\delta}}{x}, \\ \text{Digitoxin:} & y = \dfrac{47{,}06}{x^{0{,}624}} = \dfrac{47{,}06 \cdot x^{0{,}376}}{x} = \dfrac{c \cdot x^{\delta}}{x}. \end{cases}$$

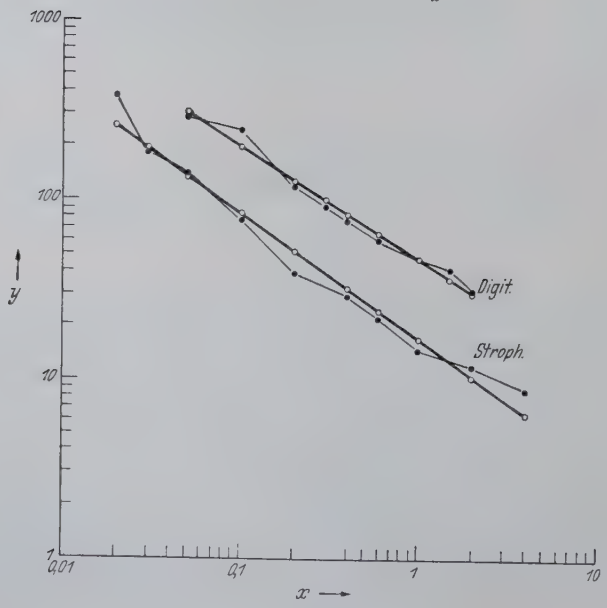


Abb. 3.

In Abb. 1 sind die entsprechenden theoretischen Hyperbeläste (stark gezeichnet) wiedergegeben, die in Anbetracht der ziemlich niedrigen Versuchsanzahlen, aus denen die Mittelwerte gewonnen sind, recht befriedigende Übereinstimmung mit den empirischen Kurven zeigen.

Die positiven Konstanten c und δ der Hyperbeln (3) stehen offenbar in engem Zusammenhang mit Lage und Gestalt der Kurven. Je größer c ist, desto weiter entfernt liegt die Hyperbel vom Nullpunkt und desto später bzw. langsamer nähert sie sich ihren beiden Asymptoten, der x- und der y-Achse. Je größer dagegen δ ist, desto mehr weicht die Hyperbel (3) von einer gleichseitigen (2) ab. c ist somit ein ungefähres Maß für den Abstand der Kurve von Nullpunkt und Achsen, während δ die Abweichung der Kurve von einer gleichseitigen Hyperbel und damit den Grad der Asymmetrie kennzeichnet.

Andererseits ist die Abweichung der Hyperbeln (4) von gleichseitigen Hyperbeln in der tatsächlichen Abweichung der Verhältnisse von der primitiven Hypothese einer für alle Infusionsgeschwindigkeiten konstanten Letaldosis begründet. Daß diese Hypothese aber nicht gültig ist, beruht darauf, daß jedes Pharmakon mit einer bestimmten endlichen Geschwindigkeit gebunden wird und somit bei gesteigerter Infusionsgeschwindigkeit von der infundierten Dosis nur ein Bruchteil tatsächlich wirksam wird. Je geringer die Bindungsgeschwindigkeit eines Giftes ist, desto stärker wird daher die Kurve von einer gleichseitigen Hyperbel abweichen und desto schwächer ist die asymptotische Annäherung an die x-Achse im Vergleich zu derjenigen an die y-Achse. Der Abstand der Hyperbel von Nullpunkt und Achsen drückt im wesentlichen die Größenordnung der erforderlichen Letaldosen aus.

Die die Hyperbel (3) bestimmenden Konstanten c und δ lassen daher folgende Deutung zu: c entspricht der Größenordnung der Letaldosen; δ läßt sich als Maß für die Bindungsgeschwindigkeit deuten; je größer δ, desto geringer die Bindungsgeschwindigkeit. Die bekannte Tatsache, daß Strophanthin eine größere Bindungsgeschwindigkeit aufweist als Digitoxin, drückt sich daher in Abb. 1 in einer etwas stärkeren Asymmetrie des Digitoxin-Hyperbelastes und in (4) in einem größeren δ-Wert für Digitoxin ($\delta = 0{,}376$) als für Strophanthin ($\delta = 0{,}310$) aus. Allerdings muß man wohl in Anbetracht des geringen Unterschiedes der δ-Werte und des nicht sehr großen Umfanges der Versuchsreihen die Möglichkeit offenlassen, daß der Unterschied noch im Zufallsbereich liege und nicht zu einem eindeutigen Schluß auf die Bindungsgeschwindigkeit berechtige. Die größere Entfernung des Digitoxin-Hyperbelastes (Abb. 1) vom Achsenkreuz und der entsprechend größere c-Wert für Digitoxin (Digitoxin: $c = 47{,}06$; Strophanthin: $c = 17{,}30$) entspricht in der Hauptsache der Tatsache, daß die Letaldosen des Digitoxins nach Tabelle 2 und 1 erheblich größer sind als die entsprechenden Strophanthindosen.

Die Anwendbarkeit der Hyperbeln (3) zur Darstellung der Beziehungen zwischen Infusionsgeschwindigkeit und -dauer erfährt jedoch eine Einschränkung, da für sehr geringe Infusionsgeschwindigkeiten bereits Entgiftungserscheinungen entgegenwirken, dementsprechend die Letaldosis z bei abnehmender Infusionsgeschwindigkeit nach Erreichen eines Minimums wieder ansteigt und sich daher bei Berücksichtigung dieser Sekundärerscheinungen die entsprechende Kurve eigentlich nicht so stark, wie es (3) entspricht, der y-Achse asymptotisch nähert.

Zusammenfassung.

An Hand eines Versuchsmaterials von 163 Katzen werden die Beziehungen zwischen Infusionsgeschwindigkeit und tödlicher Giftdosis für g-Strophanthin und Digitoxin festgelegt. Beim Strophanthin ergibt sich ein Optimum der Infusionsgeschwindigkeit bei ungefähr 0,03 mg/kg/St., bei Digitoxin ist infolge der langsamen Bindungs- bzw. Wirkungsgeschwindigkeit auch bei geringer Infusionsgeschwindigkeit noch kein Optimum festzustellen. Demnach ist die Gefahr des „Übertitrierens" bei Strophanthin bei nicht zu hoher Infusionsgeschwindigkeit gering, bei Digitoxin dagegen selbst bei Anwendung langsamer zeitlicher Giftzufuhr groß.

Die mathematische Deutung der Kurven (Frl. Dr. Geppert) ist als Anhang beigefügt. Dabei ergibt sich, daß sich für die beiden Kurven eine Formel ableiten läßt, in der zwei Konstanten auftreten. Die eine derselben entspricht der Größenordnung nach den letalen Dosen, während die andere als Maß für die Bindungsgeschwindigkeit (oder vielleicht besser gesagt Wirkungsgeschwindigkeit) gedeutet werden kann.

Literatur.

1) Straub, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **198**, 189 (1941). — 2) Herre, E.: Ebenda **184**, 716 (1937). — 3) v. Nyary: Ebenda **165**, 432 (1932). — 4) Mehnert: Ebenda **184**, 185 (1937). — 5) Kingisepp u. Lendle: Ebenda **187**, 111 (1937). — 6) Hatcher u. Brody: Amer. J. Pharmacy **82**, 360 (1910). — 7) Fromherz u. Welsch: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **161**, 266 (1931). — 8) Bauer: Ebenda **172**, 699 (1933). — 9) Bauer u. Fromherz: Klin. Wschr. **1933**, S. 973. — 10) Haferkorn u. Lendle: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **175**, 248 (1934).

Aus den Pharmakologischen Instituten der Universität Frankfurt a. M. und der Medizinischen Akademie Danzig.

Studien über den Antagonismus von Narkotica und Analeptica am Zentralnervensystem. II.

Die Wirkungen von l- und d-Ephedrin und ihre Synergismen mit Cardiazol und Strychnin am narkotisierten Rückenmark der Katze.

Von

Werner Koll und Margarete Ergang.

Mit 5 Textabbildungen (18 Einzelbildern).

(Eingegangen am 28. November 1941.)

I. Einleitung und Fragestellung.

Die experimentellen pharmakologischen Untersuchungen und die klinischen Beobachtungen über die „Weckwirkungen" der am Zentralnervensystem (ZNS) angreifenden Analeptica haben ergeben, daß diese Mittel Unterschiede in der Stärke ihrer Wirkung aufweisen, vor allem bezüglich der Narkosetiefe, aus welcher noch ein Weckerfolg erzielt werden kann. Weiterhin ergab sich, daß auch bei den wirksamsten zentralen Erregungsmitteln der Antagonismus mit zunehmender Narkosetiefe unvollständig wird, so daß schließlich eine Weckwirkung überhaupt nicht mehr erkennbar ist.

Die früheren experimentellen Untersuchungen behandeln den antagonistischen Wirkungsmechanismus am ZNS nicht näher. Erst die Arbeiten aus dem Institut von Magnus vermitteln an Hand der Stellreflexe einen genaueren Einblick in den Ablauf der Weckwirkung am intakten Tier und decken einige wichtige qualitative Unterschiede zwischen verschiedenen zentralen Erregungsmitteln auf.

Das Studium des Antagonismus zwischen Narkotica und zentralen Analeptica wurde von Koll[1, 2] unter allgemeineren Gesichtspunkten in Angriff genommen und zunächst für das Pentamethylentetrazol (Cardiazol) und das Strychnin durchgeführt. Versuchsobjekt war das Rückenmark der Katze. Als Testreaktionen wurden in erster Linie einige exterozeptive Reflexe der hinteren Extremitäten herangezogen.

Über das Verhalten der propriozeptiven Reflexerregbarkeit wurden bei diesen Versuchen ebenfalls einige Befunde erhoben. Bei Weck-

[1] Koll, W.: Verh. dtsch. pharmak. Ges., 12. Tagung (München). Berlin 1936. — [2] Koll, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **184**, 365 (1937). Dort auch Literaturangaben über frühere experimentelle Untersuchungen zur Frage der „Weckwirkungen".

versuchen mit Nikotinsäurediäthylamid (Coramin)[1] wurde außerdem in manchen Fällen das Auftreten einer eigenartigen „tonischen" Starre der Hinterextremitäten beobachtet, die offenbar ebenfalls propriozeptiv-reflektorisch bedingt ist. Damals waren sehr viele der diesbezüglichen Beobachtungen nicht an dezerebrierten Katzen mit durchschnittenem Rückenmark gemacht, sondern — aus bestimmten Gründen[2] — an Katzen, die nur dezerebriert worden waren. Es hatte sich daher nicht mit Sicherheit entscheiden lassen, ob es sich bei der Wiederherstellung der propriozeptiven Reflexreaktionen um Wirkungen an den rein spinalen Reflexbögen handelte, oder um den Einfluß einer wiedererweckten „Enthirnungsstarre" auf die Hinterextremitäten der dezerebrierten Tiere — also um Vorgänge an präspinalen Abschnitten des ZNS —, wenn auch bekannt ist, daß die Enthirnungsstarre sich an den Hinterextremitäten erheblich schwächer ausprägt als an den Vorderbeinen. Erst weitere experimentelle Arbeit konnte Aufschluß darüber geben, ob die Wiedererweckung der propriozeptiven tonischen Reflexerregbarkeit aus der Narkose als besondere pharmakologische Reaktion an rückenmarkseigenen Zellelementen und als besondere Eigenschaft einzelner Pharmaka zu werten sei.

In diesem Zusammenhang erregte es besonderes Interesse, daß Hinsey, Ranson und Zeiss[3] an dekapitierten Hunden die erloschenen „Stützreaktionen", an welchen tonische Eigenreflexe wesentlich beteiligt sind, nach Ephedrin wieder auftreten sahen. Die amerikanischen Autoren stellen bei der Erörterung dieser Wirkung die durch das Ephedrin sicher hervorgerufene Verbesserung des Kreislaufes und der Blutversorgung des ZNS ganz in den Vordergrund. Da nun aber das Ephedrin eine gewisse zentralerregende Wirkung besitzt, die allerdings nach den Weckversuchen an narkotisierten Tieren als recht schwach im Vergleich zu der der eigentlichen zentralen Analeptica anzusehen[4–7] ist, hielten wir es für möglich, daß die beobachtete Wiederherstellung der Stützreaktionen am dekapitierten Hund auf einer besonderen, auf die propriozeptiven Reflexe gerichteten zentralerregenden Wirkung des Ephedrins beruhen könnte.

Im Hinblick auf die oben erörterten Fragen nach dem Ursprung gewisser Tonussteigerungen in den Hinterextremitäten, welche Koll früher an dezerebrierten Katzen beobachtete, und nach der Beteiligung einer spezifischen Reaktion bei der Wiedererweckung propriozeptiver Reflexe am narkotisierten Rückenmark wurde die vorliegende Untersuchung der Ephedrinwirkung am rein spinalen Reflexpräparat der Katze durchgeführt.

[3] Hinsey, Ranson u. Zeiss: J. comp. Neur. (Am.) **53**, 401 (1931). — [4] Morita, S.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **78**, 218 (1915). — [5] Nierhoff, L.: Z. exper. Med. **88**, 430 (1933). — [6] Moritsch, P.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **168**, 249 (1932). — [7] Jacobsen, E., A. Wollstein u. J. Tind Christensen: Klin. Wschr. **1938**, S. 1580.

II. Versuchsanordnung.

Aus den bereits früher von Koll[2] dargelegten Gründen wählten wir als Versuchstier die Katze. Nach einleitender Äthernarkose wurden die Tiere bei künstlicher Atmung und nach Vagusdurchschneidung in tiefer Chloroformnarkose dezerebriert, so daß nach Abklingen der Operationsnarkose bei guten Kreislaufverhältnissen die Reflexerregbarkeit in einer narkosefreien Vorperiode des Versuchs genau untersucht werden konnte. Unmittelbar nach der Dezerebrierung wurde das Rückenmark in Höhe des Ansatzes der letzten Rippe freigelegt und durchschnitten. Dadurch werden präspinale Einflüsse auf die Reflexerregbarkeit des unteren Rückenmarkes, welche an den Reflexen der Hinterbeine untersucht wird, ausgeschaltet, insbesondere die aus der Enthirnungsstarre resultierenden Tonussteigerungen.

In orientierenden Versuchen registrierten wir zunächst nur von dem nahezu intakten Hinterbein der linken Seite die Höhe des exterozeptiven gleichseitigen Beugereflexes, ausgelöst durch faradische Reizung des N. peronaeus. In der überwiegenden Mehrzahl der Versuche wurden jedoch die Reflexe von den freien Muskelenden eines Kniebeugers und eines Kniestreckers, die in Form des Semitendinosus-Vastocrureus-Präparates (SVP) nach Sherrington[8, 9] isoliert wurden, auf eine Schreibvorrichtung übertragen und als Rußkurve registriert.

Im einzelnen wurden Auslösbarkeit und Stärke folgender Reflexe regelmäßig geprüft:

Von den exterozeptiven Reflexen

1. der gleichseitige Beugereflex (Semitendinosus-Kontraktion links) auf Reizung des linken N. peronaeus;
2. der gekreuzte Streckreflex (Vastocrureus-Kontraktion links) auf Reizung des rechten N. peronaeus.

Von den propriozeptiven Reflexen

1. die gekreuzte Streckerkontraktion (oder auch Beugerkontraktion, vgl. S. 585 und 586), die in dem stets auf der linken Seite angelegten SVP durch passives Beugen und Strecken des rechten Hinterbeines ausgelöst werden kann („Philippsons Reflex");
2. der bei den passiven Beugungen und Streckungen des rechten Hinterbeines als Widerstand fühlbare gleichseitige reflektorische „Tonus" der Beuge- und Streckmuskulatur (dieser gleichseitige Reflextonus konnte in manchen Fällen auch vom SVP des linken Hinterbeines als mehr oder weniger ausgesprochene tonische Verkürzung des Vastocrureus oder des Semitendinosus registriert werden);
3. in Ergänzung zu diesen rein spinalen propriozeptiven Reflexen wurde in allen Fällen auch das Verhalten der ebenfalls vorwiegend propriozeptiv-reflektorisch bedingten Enthirnungsstarre geprüft und im Protokoll vermerkt.

Bezüglich der meisten technischen Einzelheiten verweisen wir auf die früheren Angaben[2]. Es folgen hier nur kurze Hinweise auf wesentliche Punkte und auf Abänderungen gegenüber der früheren Anordnung.

[8] Sherrington, C. S.: Quart. J. exper. Physiol. **2**, 115 (1909). — [9] Girndt, O.: Pflügers Arch. **213**, 432 (1926).

Bei den Versuchen mit intaktem linken Hinterbein wurde auch der rechte N. peronaeus an einer der linken Seite möglichst genau entsprechenden Stelle in die Sherrington-Elektrode gelegt.

Das SVP wurde stets am linken Hinterbein ausgeführt. Die Lage der Reizelektrode entsprach auf der Seite des SVP genau der Lage am intakten rechten Bein.

Der Blutdruck wurde während der ganzen Versuchsdauer mit einem Gummimembranmanometer bei Natriumcarbonat-Gegeninfusion (nach P. Trendelenburg) registriert. Die Blutdruckkurve unterrichtete jederzeit über den Zustand des Kreislaufes. Bei Eintritt ernsterer Verschlechterungen konnte eine kontinuierliche Adrenalindauerinfusion eingeschaltet werden. Irrtümer durch Einflüsse des Kreislaufes auf die Erregbarkeit des Rückenmarkes[2] waren also ausgeschlossen.

Die Körpertemperatur wurde regelmäßig vor Beginn und am Ende jedes Versuches, meistens auch noch einmal in der Mitte des Versuches rektal gemessen. Während des Versuches wurde das Tier durch zwei elektrische Heizsonnen gewärmt[10]. Volumen und Frequenz der künstlichen Atmung waren den physiologischen Verhältnissen möglichst angepaßt, um eine stärkere Hyperventilation zu vermeiden.

Die Reizströme für beide Nn. peronaei lieferten Schlitteninduktorien mit 5000 Sekundärwindungen (Eisenkerne in der Primärspule). Am Primärkreis lagen 4 Volt (Akku). Die Reizfrequenz betrug 40—50/Sek., jeder Reiz dauerte 4 Sek. Die zwei elektromagnetischen Signalschreiber zur Reizmarkierung für den linken und rechten N. peronaeus sowie ein drittes Signal für Markierung von Zeit und Injektionen wurden von einer gesonderten Stromquelle betrieben. Die Kontakte für Reiz- und Signalstrom wurden genau gleichzeitig geöffnet und geschlossen. Variationen der Reizintensitäten erfolgten durch Änderung des Rollenabstandes (RA) der Sekundärspulen. Notierung der Reizstärken in cm RA. Zur Auslösung des exterozeptiven gleichseitigen Beugereflexes wurde der linke N. peronaeus durch eine selbsttätig arbeitende Vorrichtung in regelmäßigem Abstand von 1 Minute gereizt.

Etwa 2 Stunden nach Beendigung der Operationsnarkose begann jeder Versuch mit einer narkosefreien Vorperiode von etwa 15—20 Minuten. Es wurden zunächst die für das Reflexpräparat gut wirksamen Reizstärken festgestellt, die Erregbarkeit der verschiedenen Reflexe geprüft und die Konstanz der Reflexerregbarkeit noch eine gewisse Zeit kontrolliert. Dann erst wurde die Versuchsnarkose durch fraktionierte intravenöse Injektionen von Äthylurethan oder Avertin oder Pernocton eingeleitet. Durch von Zeit zu Zeit vorgenommene Reizverstärkungen an den Nn. peronaei unterrichteten wir uns laufend über die Narkosetiefe. Nach der letzten Narkoticuminjektion folgte eine Pause von mindestens 20 Minuten, eine Zeit, die nach früheren Erfahrungen für den Konzentrationsausgleich des Narkoticums, d. h. also für den Eintritt konstanter Narkosetiefe, ausreicht. Dann erst schloß sich der Weckversuch an. Die einzelnen zentralen Erregungsmittel wurden dabei ebenfalls intravenös verabfolgt.

---

[10] An die Heizspiralen der Wärmestrahler wurde nur die Hälfte der vorgeschriebenen Betriebsspannung angelegt. Die Drähte erwärmen sich dann nicht einmal bis zur Rotglut, so daß sie aus etwa 30 cm Abstand eine gerade zuträgliche Wärme auf das Tier strahlen.

III. Versuche.

A. Wirkung des Ephedrins.

1. Allgemeiner Charakter der Weckwirkung des Ephedrins am Rückenmark.

Die Weckwirkung des l-Ephedrins am narkotisierten exterozeptiven Reflexbogen (gleichseitiger Beugereflex, gekreuzter Streckreflex auf Peronaeusreiz) einer dezerebrierten Katze mit durchschnittenem Rückenmark ist als ziemlich schwach zu bezeichnen, wenn man sie mit der des Cardiazols vergleicht (Koll[2], ferner weitere Beobachtungen in dieser Arbeit). Wenn man von den zahlenmäßigen Angaben über die in unseren Versuchen verwendeten Reizstärken absieht (in den früheren Versuchen von Koll wurden andere Schlitteninduktorien verwendet, außerdem wechselt die zuträgliche Reizstärke ohnehin von Präparat zu Präparat recht beträchtlich), so ergibt sich, wie für jedes andere zentrale Analepticum, auch für das Ephedrin, daß innerhalb gewisser Grenzen, die durch die Narkosetiefe gegeben sind, die Größe des Weckerfolges von der verabfolgten Ephedringabe abhängig ist. Für die Beschreibung der Versuche benötigen wir also eine Kennzeichnung der Narkosetiefe, was am spinalen Reflexpräparat mit einigen Schwierigkeiten verbunden ist. Unter Berücksichtigung der injizierten Narkoticumdosen richteten wir uns wie früher[2] bei der Einteilung der Narkosestadien nach der Auslösbarkeit des gleichseitigen exterozeptiven Beugereflexes bei verschiedenen Reizstärken. Wir benutzten folgende Einteilung: „Leichte Narkose": der Reflex ist auf die Reizstärke der Vorperiode nahezu oder ganz erloschen. „Mittlere Narkose": der Reflex ist auf maximale Reizstärke nahezu oder gerade ganz erloschen. „Tiefe Narkose": die Narkose ist nach Erlöschen des Reflexes auf maximale Reizstärke noch weiter vertieft worden.

a) Reflexversuche am intakten Hinterbein. Versuche mit l-Ephedrin. Zur Orientierung wurde eine Reihe von Weckversuchen mit Registrierung des homolateralen Beugereflexes vom (nahezu) intakten linken Hinterbein ausgeführt. Aus einer „mittleren" Urethannarkose (1,0 g/kg i. v.) wurde durch etwa 25—30 mg kg l-Ephedrinhydrochlorid (einzelne Dosen von 5—10 mg/kg) der Beugereflex, der in der Versuchsnarkose völlig erloschen war, in nur mäßiger Größe wiederhergestellt. Insgesamt wurden l-Ephedringaben von 50 mg/kg und mehr geprüft. Eine Durchsicht der Kurven zeigt, daß die erweckten mäßigen Beugereflexe nur bis zu Gesamtdosen von 25—30 mg/kg langsam etwas an Höhe zunehmen, weitere Ephedringaben ändern an der Größe der erweckten Reflexe nichts mehr. Wir stellen also fest, daß, genau wie für das Cardiazol und das Strychnin beschrieben wurde[2], auch das Ephedrin eine absolute „Wirkungsgrenze" aufweist, die bei etwa 25—30 mg/kg erreicht ist.

Die einzelnen Dosen des Weckmittels von 5 bzw. 10 mg/kg folgten aufeinander im Abstand von etwa 5 Minuten, um vor jeder neuen Injektion den Eintritt der vollen Wirkung der vorangegangenen Dosis abzuwarten und den Verlauf der Reflexsteigerung genauer zu verfolgen.

Für die Weckwirkung des Ephedrins am Rückenmark ist, wie bei Cardiazol und Strychnin, die Art des Narkoticums offenbar ohne Einfluß, denn nach 0.15 g/kg Avertin oder 0.075 g/kg Pernocton waren die Ergebnisse die gleichen. Unter analogen Verhältnissen sind die Weckwirkungen des Cardiazols oder des Strychnins wesentlich stärker, insofern als die erweckten Reflexe erheblich größer werden als unter Ephedrin. Die Weckwirkung des Ephedrins versagt auch schon bei geringerer Narkosetiefe als die von Cardiazol und Strychnin.

b) Reflexversuche mit l- und d-Ephedrin am Semitendinosus-Vastocrureus-Präparat. In bezug auf die Stärke der Weckwirkung des l-Ephedrins im Vergleich zu Strychnin oder Cardiazol stimmen die am SVP erhaltenen Ergebnisse bei „leichteren" und „mittleren" Narkosetiefen (0,8 g/kg Äthylurethan; 60 mg/kg Pernocton) durchaus mit den am intakten Hinterbein erhaltenen Resultaten überein. Ebenso wurde die absolute „Wirkungsgrenze" des l-Ephedrins auch hier bei 25—30 mg/kg gefunden. Daraus geht zugleich hervor, daß sich am SVP hinter der durch die Versuchsnarkose hervorgerufenen Lähmung nicht eine gleichzeitige Schädigung infolge des größeren operativen Eingriffes verbirgt. Der gekreuzte exterozeptive Streckreflex im linken Vastocrureus auf Reizung des rechten N. peron. wurde unter der Weckwirkung des l-Ephedrins nicht wieder auslösbar. Das war zu erwarten, da bereits das wesentlich stärker wirkende Cardiazol nur aus „leichter" aber nicht mehr aus „mittlerer" Narkose diesen Reflex wiederherzustellen vermag.

In einigen Versuchen mit dem rechtsdrehenden Isomeren haben wir in qualitativer und quantitativer Hinsicht keine Wirkungsabweichungen gegenüber dem l-Ephedrin feststellen können. Aus „mittleren" Narkosen (1.0 g kg Äthylurethan) wurden durch 7,5—10 mg/kg d-Ephedrinhydrochlorid mäßige homolaterale Beugereflexe erhalten, während der gekreuzte Streckreflex nicht ausgelöst werden konnte. Die genaue Dosis, welche der „Wirkungsgrenze" des d-Ephedrins entspricht, wurde noch nicht ermittelt.

Auch die weiter unten beschriebenen Versuche über den Synergismus des Ephedrins mit Cardiazol und Strychnin bestätigen, daß ein nennenswerter Wirkungsunterschied des l- und d-Ephedrins am ZNS nicht zu bestehen scheint.

2. Die Verlaufsform der durch Ephedrin aus der Narkose erweckten exterozeptiven Beugereflexe.

Nach den früheren Beobachtungen von Koll[2], die sich in den weiter unten beschriebenen Versuchen voll bestätigen, ist der Ablauf der durch

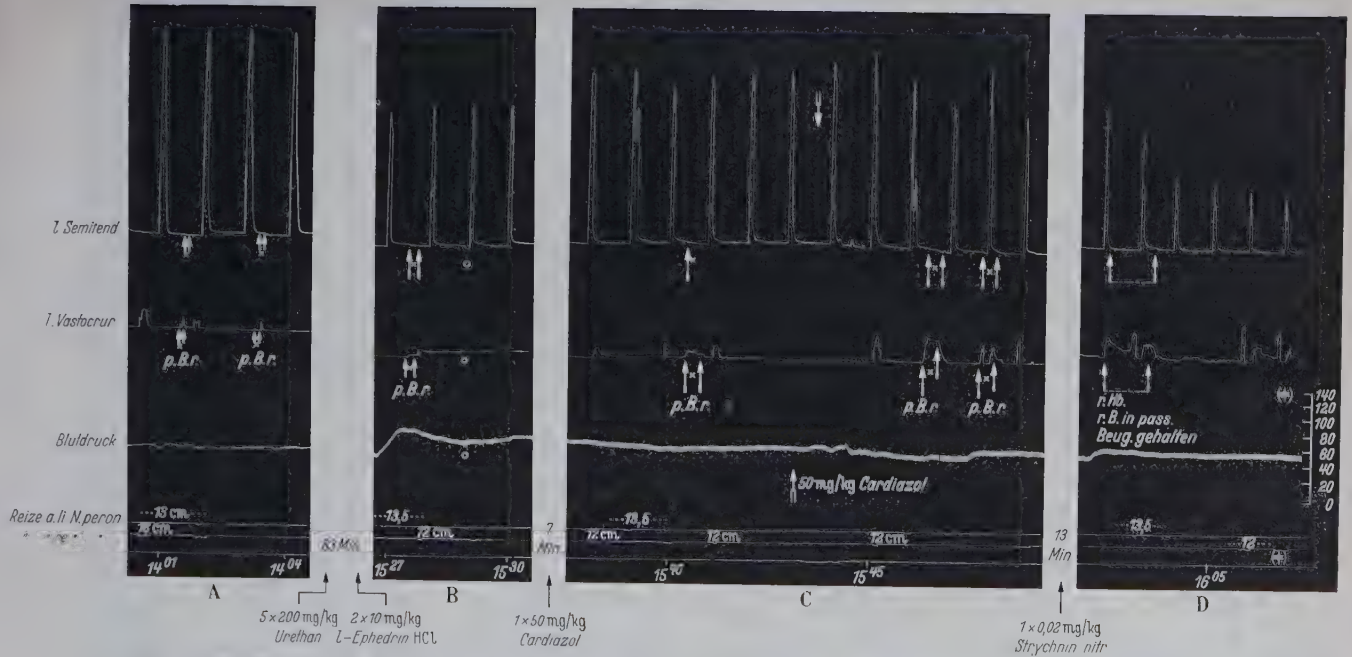


Abb. 1. Versuch vom 16. 7. 37. Katze, 2,4 kg. Dezerebrierung; Rückenmarkdurchschneidung im unteren Thorakalmark; Semitendinosus-Vastocrureus-Präparat (SVP) am linken Hinterbein. Hebelübertragungen: M. semitend. vergr. 1 : 1,2; Belastung 40 g; M. vastocr. 1 : 2; Belastung 120 g. Kurven von oben nach unten: 1. M. semitend. 2. M. vastocrur. (Bei 1. und 2. bedeutet Kurvenanstieg Kontraktion.) 3. Blutdruck mit Membranmanometer (Eichung am Rand rechts). 4. Reizsignale für Reize am linken N. peron., automatisch jede Minute ein Reiz von 4 Sekunden Dauer. Reizstärke in cm Rollenabstand (RA): s. Beschriftung. 5. Reizsignal für Reize am rechten N. peron. Reizstärke in cm RA: s. Beschriftung. 6. Signal für Injektionen und Zeiten. „pBr" = passive Beugungen des rechten Hinterbeines von ▲ bis ▲. Körpertemperatur: 39° C. A. Vorperiode. Zwischen A und B: 83 Minuten. 5 × 200 mg/kg Äthylurethan langsam i. v. (14,10 bis 14,43). Reflexe auf die in B angegebenen Reizstärken erloschen. Weckversuch mit 2 × 10 mg/kg l-Ephedrinhydrochlorid (15,14 und 15,24). Bei ○ in B mechanische Erschütterung. Zwischen B und C: 7 Minuten 1 × 50 mg/kg Cardiazol (15,33). Zwischen C und D: 13 Minuten 1 × 0,02 mg/kg Strychnin. nitric. (15,58). (Abb. 1/3 des Originals.)

Cardiazol aus der Narkose erweckten exterozeptiven homolateralen Beugereflexe dadurch gekennzeichnet, daß — namentlich in den ersten Stadien der Weckwirkung aus tieferen Narkosen — der Anstieg der Muskelkontraktion mit einer gegenüber der Norm etwas verminderten Geschwindigkeit verläuft und daß der Abfall zur Ruhelage nach Aufhören des Reizes, manchmal schon während des noch andauernden Reflexreizes beginnend, rasch und ohne merkliche Verzögerung eintritt. Bei etwas stärkerer Weckwirkung bietet der Reflex schon das Bild einer ruhigen Dauerbeugung, d. h. der Beugemuskel bleibt während der ganzen Reizdauer auf der erreichten Höhe oder er fällt nur sehr wenig während des Reizes ab, um dann mit Abbrechen des Reizes sofort steil abfallend in die Ruhelage zurückzukehren.

Unter der Weckwirkung des Ephedrins erfolgt in den ersten Wirkungsstadien ein ziemlich steiler Reflexanstieg mit etwa normaler Geschwindigkeit. Während des noch andauernden Reflexreizes erfolgt ein mäßiger Abfall, manchmal bis etwa zur Hälfte der anfangs erreichten Höhe. Nach Schluß des Reizes kehrt der Muskel gewöhnlich deutlich zögernd in seine Ruhelage zurück. Dieser „tonische" Verlauf der abfallenden Reflexkurve tritt besonders mit zunehmender Annäherung an die Ruhelage immer deutlicher in Erscheinung. Unter weiteren Ephedringaben prägt sich dieser im Anfangsstadium nur angedeutete tonische Reflexablauf deutlicher aus (vgl. Abb. 1, B).

Es kommt sogar vor, wenn auch nur vereinzelt, solange Ephedrin allein angewendet wird, daß der Muskel erst im Verlauf mehrerer Minuten oder gar nicht mehr vollständig erschlafft, sondern dauernd „tonisch" verkürzt bleibt, so daß der automatisch nach 1 Minute folgende Reflexreiz einsetzt, wenn die Reflexkurve die Grundlinie noch nicht wieder erreicht hat. Durch Summation der bestehenden tonischen Erregung und der Impulse des neuen Reflexreizes kommt dann eine Reflexzunahme zustande. Diese darf dann natürlich nicht allein auf die Leistungsfähigkeit des exterozeptiven Reflexbogens bezogen werden.

3. Die Weckwirkung des Ephedrins auf die propriozeptiven Reflexe.

Der eigenartige tonische Verlauf der durch Ephedrin aus der Narkose erweckten homolateralen exterozeptiven Beugereflexe schien bereits die in der Einleitung ausgesprochene Vermutung einer besonderen Ephedrinwirkung an den propriozeptiven Reflexbögen zu bestätigen. Auch die dauernde Orientierung über das Verhalten der Enthirnungsstarre in den Vorderbeinen der dezerebrierten Katzen war sehr aufschlußreich, da diese ebenfalls ein tonischer propriozeptiver Reflex ist, an welchem jedoch präspinale Zentren beteiligt sind.

In den sehr zahlreichen Weckversuchen mit Cardiazol, die früher von Koll ausgeführt wurden, ebenso wie in den später besprochenen Kombinationsversuchen, in denen Cardiazol als erstes Weckmittel angewendet wurde, zeigte sich, daß dieses Mittel nur aus „leichteren" Narkosen

einen meist nur mäßigen Strecktonus der Vorderbeine wiederherzustellen vermag. Aus „mittleren" und „tiefen" Narkosen rufen auch höchste Cardiazolgaben keinen Strecktonus der Vorderbeine mehr hervor. Auch ein am nicht narkotisierten Präparat statt dessen unter Krampfgiften gelegentlich auftretender Beugetonus wurde nicht erhalten.

Demgegenüber wird durch das Ephedrin aus leichteren Narkosen eine meistens sehr erhebliche Enthirnungsstarre erweckt. Sogar bei mittleren Narkosetiefen läßt sich unter Ephedrinwirkung noch ein sehr deutlicher Tonus als eine Resistenz bei passiver Beugung der Vorderbeine nachweisen. Erst bei tieferen Narkosen bleibt auch unter Ephedrin ein nachweisbarer Strecktonus der Vorderbeine aus. Im Vergleich zu Cardiazol wirkt das auf den exterozeptiven gleichseitigen Beugereflex schwächer wirksame Ephedrin stärker auf jene propriozeptiven Reflexbögen, auf welchen die Impulse der Enthirnungsstarre verlaufen. Diese Beobachtungen über das Verhalten der Enthirnungsstarre werden wegen ihrer Gleichartigkeit zur Ergänzung der Befunde an den spinalen Reflexen mitgeteilt.

Der gleichseitige propriozeptiv-reflektorische „Muskeltonus" des intakten rechten Hinterbeines läßt sich durch den verschiedenen Widerstand, den das Bein passiven Beugungen und Streckungen entgegensetzt, recht gut in seiner Intensität abschätzen und mit entsprechenden Vermerken im Protokoll kennzeichnen. Von einer gewissen Stärke an läßt dieser Tonus die Eigenschaften eines „plastischen Tonus" (Sherrington) erkennen.

Dieselben passiven Beugungen und Streckungen des rechten Hinterbeines, welche zur Prüfung der gleichseitigen propriozeptiven Reflexerregbarkeit angewendet werden, lösen auch Impulse auf gekreuzten propriozeptiven Reflexbahnen aus, wobei normalerweise eine passive Beugung rechts zur Kontraktion des linken Kniestreckers führt (Philippsons Reflex) und eine passive Streckung rechts (allerdings nicht mit derselben Häufigkeit in den verschiedenen Präparaten) auf der linken Seite eine Kniebeugerkontraktion auslöst, Reaktionen, die mit den zugehörigen reziproken Hemmungen in der Reflexkurve registrierbar sind.

Wir wollen gleich hier vor der Beschreibung unserer Versuchsergebnisse darauf hinweisen, daß der gekreuzte propriozeptive Reflex in einer Anzahl unserer Präparate insofern einen abnormen Verlauf zeigte, als auf passive Beugung des rechten Hinterbeines der linke Strecker in Ruhe verharrte oder nur minimal reagierte und statt dessen eine Kontraktion des linken Beugers eintrat. In diesen Präparaten reagierte dann auf passive Streckung rechts der linke Beuger entweder gar nicht, oder er antwortete nochmals mit einer Kontraktion, während der linke Strecker völlig ruhig blieb.

Die Erklärung für diese nicht so sehr häufige Verlaufsform der gekreuzten propriozeptiven Reflexe dürfte derjenigen entsprechen, die bei den exterozeptiven Reflexen für die Auslösung eines gleichseitigen Streckreflexes an Stelle eines Beugereflexes und eines gekreuzten Beugereflexes an Stelle eines Streckreflexes gefunden wurde, nämlich in der gleichzeitigen Erregung verschiedener Rezeptoren, deren afferente Bögen teilweise auf Beuger und teilweise auf Strecker geführt

werden. Es liegt also die Konkurrenz zweier Reflexe vor, und je nach der Verteilung des Reizes auf die verschiedenen afferenten Neurone und je nach der Erregbarkeit der verschiedenen Bögen können dann scheinbar gleichartige Reize am gleichen Tier, vor allem aber an verschiedenen Tieren, zu ganz verschiedenen Reflexabläufen führen, die sich durch die Versuchsbedingungen zur Zeit noch nicht beherrschen lassen. Daß derartige Verhältnisse nicht nur für die exterozeptiven, sondern auch für die propriozeptiven Reflexe vorliegen, ist aus den Versuchsergebnissen von Morson und Philipps [11] abzuleiten. Diese Autoren konnten ausgehend von älteren morphologischen Befunden den im Vastocrureus und Semitendinosus der Katze histologisch unterscheidbaren Propriorezeptoren auch verschiedenartige Reflexreaktionen zuordnen.

Für die Auswertung unserer Versuche können wir demnach zunächst einmal von einer genaueren Analyse der verschiedenen propriozeptiven Reflexabläufe, welche im SVP (links) durch passive Beugungen und Streckungen des rechten Hinterbeines auslösbar sind, absehen und sie zusammen als propriozeptive Reflexe gleichwertig betrachten, zumal sich nach allen bisherigen Beobachtungen sowohl mit Ephedrin als auch mit Veritol [12] und einigen anderen Pharmaka ähnlicher Struktur [13] keine Unterschiede gezeigt haben.

Unsere Reflexpräparate zeigten während der narkosefreien Vorperioden im allgemeinen eine recht gute propriozeptive Reflexerregbarkeit. Nur wenige Präparate waren schlecht erregbar, was erwähnt werden mag, weil diese Reflexe von anderen Autoren als „launisch" bezeichnet worden sind. In den Weckversuchen ergaben auch die in der Vorperiode propriozeptiv schwerer erregbaren Präparate durchweg klare Resultate.

Sowohl der gleichseitige propriozeptiv-reflektorische Muskeltonus als auch der gekreuzte propriozeptive Streckreflex (bzw. der an seiner Stelle auftretende gekreuzte Beugereflex) erweisen sich als sehr narkoseempfindlich. Schon geringe Narkoticumgaben (200—400 mg/kg Urethan) führen zum Erlöschen dieser Reflexe. (Etwa dieselbe Narkoseempfindlichkeit zeigt der exterozeptive gekreuzte Streckreflex!)

Im Weckversuch mit Ephedrin zeigte sich nun, daß nicht nur aus leichteren, sondern auch aus mittleren Narkosetiefen (1,0—1,2 g/kg Urethan) durch Ephedringaben von 10—20 mg/kg der „Muskeltonus" (Testreaktion für gleichseitige propriozeptive Reflexerregbarkeit) des intakten rechten Hinterbeines in immerhin sicher erkennbarer Intensität wiederhergestellt wird. Gewöhnlich überwiegt der Tonus der Strecker, seltener umgekehrt. Wurde der Versuch bei mittlerer Narkose vorgenommen, so wurde der Muskeltonus nach den Ephedringaben meistens nicht so stark, aber er war immer einwandfrei erkennbar, in anderen Fällen wurde er fast so stark wie nach leichteren Narkosen. Die im Zusammenhang mit den Veränderungen im Ablauf des exterozeptiven gleichseitigen Beugereflexes erwähnte anhaltende tonische Verkürzung des Semitendinosus oder des Vastocrureus trat dementsprechend aus mittlerer Narkose schon nicht mehr so häufig in Erscheinung, was jedoch möglicherweise mit der relativ hohen Gewichtsbelastung, besonders des Vastocrureus, zusammenhängt. Die gekreuzte Vastocrureus- (bzw. Semitendinosus-)

[11] Morson, St., u. G. Philips: J. Physiol. (Brit.) **88**, 199 (1936). — [12] Koll, W., u. M. Koll-Schröder: Klin. Wschr. **1939**, S. 380. — [13] Unveröffentl. Versuche von W. Koll u. M. Koll-Schröder.

Kontraktion links auf passive Beugungen des rechten Hinterbeines wird bei mittleren Narkosen ebenfalls in der überwiegenden Zahl der Versuche wieder auslösbar, wenn auch diese Kontraktionen für gewöhnlich nur sehr mäßige Höhen annehmen (Abb. 1, B). Aus „tiefen" Narkosen werden durch das Ephedrin keine propriozeptiven Reflexreaktionen wiederhergestellt.

Auch bei der Erweckung propriozeptiver Reflexe aus der Narkose läßt sich eine „Wirkungsgrenze" des l-Ephedrins erkennen, jenseits welcher weitere Ephedringaben nicht mehr zu einer weiteren Zunahme der Reflexerregbarkeit führen. Diese Wirkungsgrenze prägt sich in den Beobachtungen und Kurven der propriozeptiven Reflexe nicht mit der gleichen Schärfe aus wie in denen des exterozeptiven Beugereflexes, da in unserer Versuchsanordnung die bei den passiven Beugungen und Streckungen des intakten rechten Hinterbeines bestehenden Reizbedingungen nicht bei jeder Prüfung so exakt reproduzierbar sind wie der elektrische Reiz, der zur Auslösung des exterozeptiven gleichseitigen Beugereflexes gesetzt wird. Die „Wirkungsgrenze" des Ephedrins für die Wiederherstellung der propriozeptiven Reflexerregbarkeit liegt nach unseren bisherigen Beobachtungen etwa zwischen 20 und 30 mg/kg, also in demselben Bereich wie beim exterozeptiven Beugereflex. Eine genauere Umreißung der Wirkungsgrenze wird nach Ausführung methodischer Untersuchungen zur exakteren Auslösung tonischer propriozeptiver Reflexe versucht werden.

Daß sich in den zunächst nicht sonderlich in die Augen fallenden Beobachtungen über die propriozeptive Reflexerregbarkeit bereits eine Besonderheit der Ephedrinwirkung an den spinalen Reflexbögen erkennen läßt, wird klar, wenn man unter den gleichen Bedingungen die Wirkungen von Cardiazol und Strychnin prüft. Dabei stellt sich nämlich heraus, daß diese Mittel, welche eine dem Ephedrin überlegene Wirkung auf den exterozeptiven gleichseitigen Beugereflex haben, wie bereits weiter oben erwähnt wurde, kaum die propriozeptiven Reflexe erwecken. Der Muskeltonus im rechten Hinterbein wird nach diesen Stoffen nur sehr selten wieder erkennbar und nur in vereinzelten Ausnahmefällen wird nach Cardiazol (z. B. Abb. 3) oder Strychnin der gekreuzte Philippsonsche Reflex wieder erhalten. Er zeigt dann auch nur einen flüchtigen und keineswegs tonischen Ablauf.

Es wurde in Kontrollversuchen mit indirekter Reizung des Semitendinosus und des Vastocrureus von ihren motorischen Nerven aus noch besonders festgestellt, daß die beschriebenen Ephedrinwirkungen nicht auf einem peripheren Angriff beruhen können, sondern daß es sich um zentrale Wirkungen handelt.

B. Der Synergismus von Ephedrin mit Cardiazol und Strychnin.

Die besondere Wirkung des Ephedrins auf die Erregbarkeit propriozeptischer Reflexbögen prägt sich in anderen Versuchsanordnungen, in denen die Wirkung des Ephedrins durch die des Cardiazols und des Strychnins ergänzt wird, noch schärfer aus. Da die Angriffspunkte von Cardiazol

und Strychnin innerhalb der spinalen Reflexbögen als genauer bekannt angesehen werden dürfen[2], gewinnen wir aus diesen Versuchen Anhaltspunkte für eine nähere Umgrenzung des spinalen Angriffspunktes des Ephedrins.

Die Beurteilung der Ephedrinwirkung in den Kombinationsversuchen mit Cardiazol und Strychnin setzt eine genauere Kenntnis des Synergismus von Cardiazol und Strychnin voraus, der darum nach den früheren Ergebnissen von Koll und nach neuen Beobachtungen ebenfalls kurz beschrieben wird.

1. Der Synergismus von Cardiazol und Strychnin und die Wirkung zusätzlicher Ephedringaben.

Die Versuche von Koll erstreckten sich in erster Linie auf exterozeptive Reflexe, nämlich den durch Peronaeusreizung ausgelösten gleichseitigen Beugereflex und gekreuzten Streckreflex. Eine Anzahl von Beobachtungen über die jetzt besonders interessierenden propriozeptiven Reflexe wurden nur ergänzend mitgeteilt und nicht weiter ausgewertet. Wenn auch die damaligen Versuche an dezerebrierten Katzen ohne Rückenmarkquerdurchtrennung ausgeführt wurden und damit für die Beurteilung der rein spinalen propriozeptiven Reflexe nicht voll verwertbar sind (vgl. S. 577 und 578), so ist es doch wichtig, darauf hinzuweisen, daß erst unter der gemeinsamen Wirkung von Cardiazol und Strychnin in höheren Gaben neben der Enthirnungsstarre eine tonische Verkürzung des Vastocrureus zustande kommt (Koll, l. c. S. 411), offenbar, wie wir jetzt annehmen, unter der Mitwirkung stärkerer Impulse aus präspinalen Abschnitten des ZNS. Hinsichtlich der spinalen Wirkung von Cardiazol und Strychnin ist es ferner bemerkenswert, daß trotz der zusätzlichen Impulse aus höheren Abschnitten nur in einem Falle der Philippsonsche Reflex, d. h. die gekreuzte Streckerkontraktion und nicht nur die reziproke Beugerhemmung auf passive Beugungen des rechten Hinterbeines erhalten wurde. Die weiter mitgeteilte Beobachtung über das Auftreten eines Tonus im intakten Hinterbein bei durchtrenntem Rückenmark bezieht sich auf Versuche mit geringeren Narkosetiefen.

Um für die Interpretation der nachher zu beschreibenden Kombinationsversuche mit Ephedrin über die wichtige Frage der Wiederherstellbarkeit der rein spinalen propriozeptiven Reflexerregbarkeit durch Cardiazol-Strychnin sichere Unterlagen zu gewinnen, wurden noch eine Anzahl von Weckversuchen mit diesen beiden Mitteln an dezerebrierten Katzen mit durchschnittenem Rückenmark ausgeführt.

Aus mittleren bis tiefen Narkosen (1,2—1,6 g/kg Urethan) lassen sich durch Cardiazol, welches bis zur Erreichung der „Wirkungsgrenze“ und noch darüber hinaus in fraktionierten Dosen verabfolgt wird (sechs- bis siebenmal 50 mg/kg), zwar mittelhohe gleichseitige Beugereflexe, aber keine gekreuzte Streckreflexe, kein Muskeltonus, kein Philippsonscher

Reflex und keine Enthirnungsstarre wieder erwecken (vgl. Abb. 2, B). Injiziert man auf dieser Cardiazolbasis Strychnin (0,1 mg/kg in Einzel-

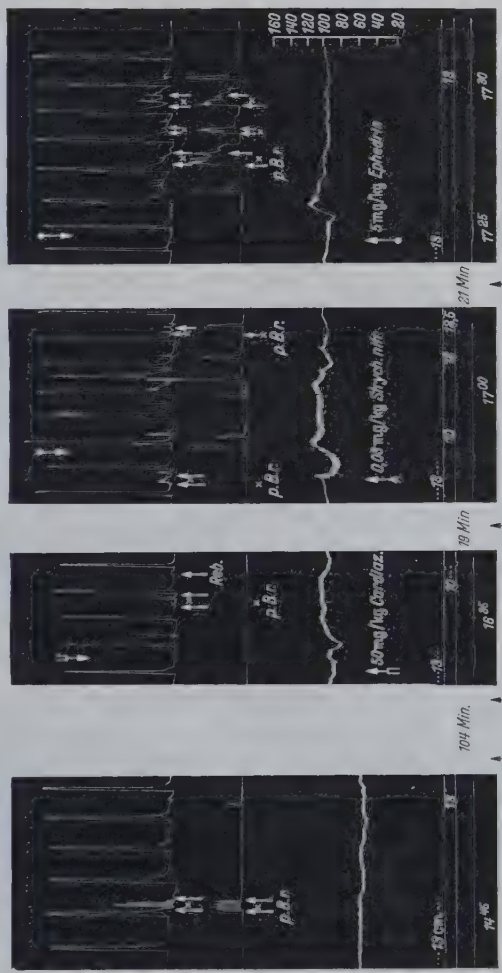


Abb. 2. Versuch vom 29. 7. 37. Katze, 2,9 kg. Dezerebrierung; Rückenmarkkurzschneidung im unteren Thorakalmark; SVP am linken Hinterbein. Allgemeine Erläuterungen zur Kurve: s. bei Abb. 1. „pBr" = passive Beugungen des rechten Hinterbeines von A bis A. Körpertemperatur 37° C. A: Vorperiode. Zwischen A und B: 104 Minuten. 6 × 200 mg/kg Athyluretlian i. v. (14,58—15,34). Reflexe auf in B angegebene Reizstärken erloschen. Weckversuch: 6 × 50 mg/kg Cardiazol (15,53, 15,58, 16,02, 16,11, 16,18, 16,26). Reb. = „rebound"-Kontraktion auf Reiz am re. N. peron. Zwischen B und C: 19 Minuten. 2 × 0,03 mg/kg Strychnin. nitric. (16,41, 16,45). Zwischen C und D: 21 Minuten 1 × 2,5 mg/kg l-Ephedrin hydrochlorid (17,03). (Abb. 1/3 des Originals).

dosen von 0,02—0,03 mg/kg), so erfährt der exterozeptive gleichseitige Beugereflex eine starke Steigerung, meistens erreicht er fast oder ganz die größtmögliche Höhe. Der entsprechende gekreuzte Streckreflex wird

ebenfalls auslösbar (Abb. 2, C), jedoch es tritt keine nennenswerte „tonische" Komponente im Ablauf dieser Reflexe auf. Es lassen sich auch die anderen spinalen propriozeptiven Reflexe (Muskeltonus, Philippsons Reflex) im allgemeinen gar nicht auslösen (Abb. 2, C), vereinzelt sind Andeutungen von ihnen zu erhalten. (Erst wenn die Strychnindosen bis nahe an die Krampfgrenze gesteigert werden, lassen sich auch öfter propriozeptive Reflexe auslösen. Gleichzeitig besteht dann gewöhnlich ein heftiger Tremor, namentlich der Streckmuskeln.) Die Enthirnungsstarre wird jetzt schon sehr deutlich wieder bemerkbar.

Folgen nun noch Injektionen von Ephedrin (Einzeldosen von 2,5 bis 5 bis 10 mg/kg), so zeigt der exterozeptive gleichseitige Beugereflex keine Höhenzunahme mehr, der exterozeptive gekreuzte Streckreflex gewinnt nur manchmal noch etwas an Höhe. Nach den ersten Ephedrininjektionen jedoch wird an den abfallenden Kurventeilen dieser Reflexe der tonische Verlauf erkennbar, im rechten Hinterbein wird der Muskeltonus sehr gut fühlbar, und auch der gekreuzte propriozeptive Streckreflex auf passive Beugung des intakten rechten Beines läßt sich auslösen (Abb. 2, D). Weitere Ephedringaben (bis 20—30 mg/kg) ändern an der exterozeptiven Reflexerregbarkeit nichts mehr, nur der tonische Charakter wird noch stärker und die anderen propriozeptiven Reflexe gewinnen noch an Intensität. Die unter Cardiazol-Strychnin sehr deutlich ausgeprägte Enthirnungsstarre erreicht unter den zusätzlichen Ephedringaben mindestens die normale Stärke eines guten narkosefreien Präparates, meistens jedoch wird sie außerordentlich viel stärker, wobei völlige Starre auch im Schultergürtel auftritt.

2. Der Synergismus von Cardiazol mit Ephedrin und die Wirkung zusätzlicher Strychningaben.

a) Versuche am intakten Hinterbein. Aus mittleren und tiefen Narkosen (1,1 g/kg Urethan; 0,12 und 0,21 g/kg Avertin) wurden durch Cardiazolgaben, die bis zur Erreichung der „Wirkungsgrenze" und darüber hinaus fortgesetzt wurden (sieben- bis neun- bis elfmal 50 mg/kg Cardiazol), je nach Tiefe der Narkose mäßige bis mittelhohe homolaterale Beugereflexe erweckt. Unter diesen Bedingungen werden durch 5 mg/kg l-Ephedrinhydrochlorid sehr beträchtliche Zunahmen des exterozeptiven Beugereflexes erzielt, während eine zweite Dosis von 5 mg/kg keine oder nur noch eine geringfügige Steigerung zur Folge hat. Weitere Ephedringaben lassen keine Reflexsteigerung am gleichseitigen Beugereflex mehr erkennen. Schon in diesen Vorversuchen fiel das Auftreten des Muskeltonus im völlig intakten rechten Hinterbein im Anschluß an die Ephedringaben auf.

Die durch Cardiazol nicht oder höchstens andeutungsweise wiedererweckte Enthirnungsstarre wird durch die zusätzlichen Ephedringaben sofort und gewöhnlich bis zur vollen Stärke des nicht narkotisierten Präparates wiederhergestellt, oft sogar bis zu größerer Intensität.

Die durch die späteren Ephedringaben nicht mehr beeinflußten gleichseitigen Beugereflexe erfahren durch kleine Strychningaben (0,03 mg pro kg) nochmals eine meist ganz außerordentliche Steigerung. Gleichzeitig zeigt auch der Muskeltonus des intakten rechten Hinterbeines sehr

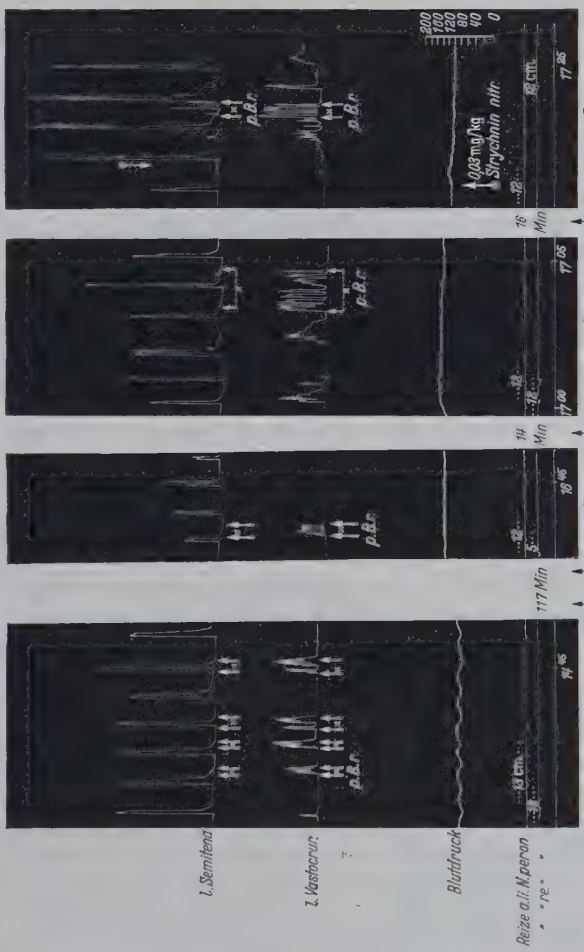


Abb. 3. Versuch vom 17. 9. 37. Ratze, 2,6 kg. Dezerebrierung; Rückenmarkdurchschneidung im unteren Thorakalmark; SVP am linken Hinterbein. Allgemeine Erläuterungen zur Kurve: s. Abb. 1. „pBr" passive Beugungen des rechten Hinterbeines. Von A bis A. Körpertemperatur 37° C. A: Vorperiode. Zwischen A und B: 117 Minuten: 4 × 30 mg/kg Avertin i. v. (14,51—15,18). Reflexe auf links 5 cm RA und rechts 5 cm RA erloschen. Werkversuch: 8 × 50 mg/kg Cardiazol (15,38, 15,42, 15,47, 15,58, 16,12, 16,22, 16,32, 16,39). Zwischen B und C: 14 Minuten. 2 × 5,0 mg/kg l-Ephedrinhydrochlorid (16,46, 16,58). Zwischen C und D 16 Minuten: 1 × 10 mg/kg l-Ephedrinhydrochlorid (17,06). (Abb. 1/3 des Originals.)

beträchtliche Stärke, und die Enthirnungsstarre erreicht ganz abnorme Grade.

b) Versuche am Semitendinosus-Vastocrureus-Präparat. Die Versuche wurden bei mittleren oder tieferen Narkosen (1.2—1.4 g/kg Urethan; 0.12—0.21 g/kg Avertin; 0,06—0,08 g/kg Pernocton) durch-

geführt. Cardiazol wurde bis über die Wirkungsgrenze (bei 200—250 mg/kg) hinaus verabfolgt (sechs- bis neunmal 50 mg/kg) mit dem Ergebnis mäßiger bis mittlerer Höhen des homolateralen exterozeptiven Beugereflexes (Abb. 3, B). Der gekreuzte exterozeptive Streckreflex im linken Vastocrureus auf Reizung des rechten N. peronaeus wurde nicht auslösbar. der Tonus im rechten Hinterbein trat nicht auf, auch der Philippsonsche Reflex blieb fast immer negativ. Ganz vereinzelt waren flüchtige, nichttonische Kontraktionen des linken Vastocrureus auf passive Beugung des rechten Beines zu erhalten (vgl. z. B. Abb. 3, B).

Verabfolgt man in diesem Stadium des Versuches l-Ephedringaben (5 mg/kg), so zeigt sich an den gleichseitigen Beugereflexen im Semitendinosus eine deutliche, aber meistens nicht sehr große Steigerung der Kontraktionshöhen. Die Wirkung entwickelt sich allmählich im Laufe von 4—6 Minuten und hält dann auffallend lange unvermindert an (20 Minuten und länger). Eine geringfügige weitere Beugereflexsteigerung kann manchmal noch durch eine zweite Dosis von 5 mg/kg l-Ephedrinhydrochlorid erhalten werden, weitere Gaben ändern die Höhe nicht mehr.

Schon nach den ersten Ephedringaben nehmen die Beugereflexe im Semitendinosus eine gewisse tonische Verlaufsform ihres abfallenden Kurvenschenkels an, die sich unter weiteren Dosen steigert, auch wenn die Höhe des exterozeptiven Beugereflexes sich nicht mehr ändert (Abb. 3, C).

Der exterozeptive gekreuzte Streckreflex im Vastocrureus tritt nach den zusätzlichen Ephedringaben ebenfalls manchmal wieder auf. Das hängt möglicherweise damit zusammen, daß dieser Reflex, worauf schon Sherrington hinwies, bereits normalerweise einen ausgesprochen tonischen Charakter zeigt (Abb. 3, C). Meistens bleibt jedoch dieser Reflex noch sehr unsicher oder gar nicht auslösbar.

Bei der Ausführung passiver Beugungen und Streckungen des rechten Hinterbeines erkennt man auf der Cardiazolbasis schon nach 5 mg/kg l-Ephedrinhydrochlorid einen sehr deutlichen oder sogar ziemlich kräftigen Tonus, der die Eigenschaften des „plastischen Tonus" aufweist. Meistens überwiegt der Tonus der Strecker den der Beuger, seltener tritt die umgekehrte Erscheinung auf. Bei der passiven Beugung des rechten Hinterbeines wird zugleich festgestellt, daß die gekreuzte Streckung (oder die an ihrer Stelle manchmal auftretende Reaktion des Semitendinosus auf der linken Seite) auslösbar geworden ist (Abb. 3, C), während passive Streckung rechts zur Erschlaffung des linken Streckers führt (Abb. 3, C). Besteht im linken Beuger eine gewisse tonische Verkürzung, so löst passive Beugung rechts eine völlige Erschlaffung in ihm aus, während passive Streckung rechts nicht immer zur Erschlaffung des tonisch verkürzten Vastocrureus führt und auch nicht immer eine Kontraktion des linken Semitendinosus herbeiführt. Wiederholungen der Ephedringabe von 5 mg/kg führen noch zu wesentlicher Steigerung der propriozeptiven Reflexe, während die

exterozeptiven Reflexe nur noch wenig oder gar nicht mehr gesteigert werden.

Die Ursache für den von Fall zu Fall verschiedenen Ablauf der propriozeptiven Reflexe dürfte, wie oben bereits ausgeführt (S. 585 u. 586) in dem Wettstreit zwischen den Impulsen verschiedener afferenter Bögen liegen. Es konnte im Rahmen dieser Arbeit noch nicht geklärt werden, wieweit dabei die Tonusunterschiede in der Streck- und Beugemuskulatur des passiv bewegten rechten Beines und damit die Reizempfindlichkeit der in ihnen gelegenen Propriorezeptoren eine Rolle spielen.

Injiziert man in dem soeben näher beschriebenen Stadium der synergistischen Wirkung von Cardiazol und l-Ephedrin noch eine kleine Strychnindosis (z. B. 0,02—0,03 mg/kg), so zeigt sich an dem durch Peronaeusreizung ausgelösten gleichseitigen Beugereflex und gekreuzten Streckreflex eine ganz erhebliche Größenzunahme (Abb. 3, D). Der exterozeptive gekreuzte Reflex wird in vielen Fällen überhaupt erst unter der zusätzlichen Strychninwirkung auslösbar. Außerdem werden aber auch der Muskeltonus des rechten Hinterbeines, die tonische Verlaufsform der exterozeptiven Reflexe und die gekreuzten propriozeptiven Reflexe erheblich verstärkt (Abb. 3, D). Die Vastocrureuskurve zeigt öfter eine anhaltende tonische Verkürzung dieses Muskels (Abb. 3, D).

Die Enthirnungsstarre erreicht nach den Strychnininjektionen Intensitäten, die durchweg weit über denjenigen guter normaler Präparate in narkosefreiem Zustand liegen.

An Stelle der Enthirnungsstarre in der gewöhnlichen Form der tonischen Streckerstarre, die in unseren Präparaten mit durchschnittenem Rückenmark nur in den Vorderbeinen auftreten kann, sahen wir in wenigen Weckversuchen einmal das Auftreten einer tonischen Beugung der Vorderbeine. Über die Ursache dieser tonischen Beugung ist nichts Näheres bekannt. Die Lage des Dezerebrierungsschnittes im Mittelhirn spielt offenbar keine Rolle, denn es ist bekannt[14], daß am nicht narkotisierten enthirnten Tier einige Stunden nach der Enthirnung ein spontaner Umschlag der Streckerstarre zur tonischen Beugehaltung erfolgen kann und daß nach einigen zentralen Erregungsmitteln (z. B. Pikrotoxin) dieser Umschlag besonders leicht eintritt. Wir sind der Erscheinung nicht weiter nachgegangen, da für uns hinsichtlich der propriozeptiven Reflexerregbarkeit im allgemeinen beide Tonusformen wohl gleich zu bewerten sind.

c) Synergismus von Cardiazol und d-Ephedrin. Den soeben beschriebenen Versuchen folgten noch einige Versuche mit d-Ephedrin, um die Frage etwaiger qualitativer oder quantitativer Wirkungsunterschiede der beiden optischen Isomeren auch im Synergismus mit Cardiazol zu prüfen.

Bei mittleren Narkosetiefen (1,1—1,2 g/kg Urethan) und auf einer fraktioniert verabfolgten Cardiazolbasis von 250 und 275 mg/kg, womit die Wirkungsgrenze des Cardiazols sicher erreicht und überschritten war, wurde das d-Ephedrinhydrochlorid in Einzeldosen von 2,5—5,0 mg/kg bis zu Gesamtdosen von 7,5—15 mg/kg intravenös injiziert. Irgendwelche

[14] Magnus, R.: Körperstellung. Berlin 1924.

Wirkungsunterschiede gegenüber der l-Form wurden an den von uns untersuchten Reflexen nicht beobachtet. Auch in größerem Abstand nach d-Ephedringaben verabfolgtes l-Ephedrin (zwei- bis dreimal 5,0 mg/kg) änderte nichts mehr an den Reflexhöhen, so daß man die Wirkungen der beiden optisch aktiven Formen des Ephedrins wohl als übereinstimmend betrachten darf. Die synergistische Wirkung kleiner Strychnindosen verlief ebenfalls in der beschriebenen Weise.

3. Der Synergismus von Strychnin und Ephedrin und die Wirkung zusätzlicher Cardiazolgaben.

Die mit Strychnin bei tieferen Narkosen (1,6—2,0 g/kg Urethan) ausgeführten Weckversuche ergeben, daß bis zur Erreichung der „Wirkungsgrenze" des Strychnins[2] und darüber hinaus (z. B. zehnmal 0,06 mg/kg) nur kleine oder sehr mäßige exterozeptive gleichseitige Beugereflexe erweckt werden, ohne daß homolaterale oder kontralaterale propriozeptive Reflexe nachgewiesen werden können. Der Muskeltonus im rechten Hinterbein fehlt, passives Beugen und Strecken des rechten Hinterbeines löst weder im Strecker noch im Beuger des SVP irgendwelche Reaktionen aus (Abb. 4, B). Die Enthirnungsstarre tritt fast niemals wieder in Erscheinung, ganz vereinzelt ist sie nach so hohen Strychningaben schwach angedeutet.

Injiziert man jetzt l-Ephedrin (Einzeldosen von 2,5 oder 5,0 mg/kg bis zu Gesamtdosen von 20—30 mg/kg), so erfahren die exterozeptiven gleichseitigen Beugereflexe schon nach der ersten Dosis eine deutliche Steigerung und der abfallende Schenkel ihrer Kurve läßt eine tonische Verzögerung der Muskelerschlaffung erkennen (Abb. 4, C). Im rechten intakten Hinterbein wird bei passivem Beugen und Strecken ein sehr deutlicher bis kräftiger Muskeltonus fühlbar, zugleich wird durch diese passiven Bewegungen der gekreuzte propriozeptive Reflex im linken Vastocrureus (oder auch im linken Semitendinosus) wieder ausgelöst (vgl. Abb. 4, C; in diesem Reflexpräparat reagiert sowohl in der Vorperiode wie auch im Weckversuch nicht der linke Strecker, sondern der linke Beuger!). Die weiteren Einzeldosen des Ephedrins bringen an den exterozeptiven Reflexen, von denen der gekreuzte Streckreflex seltener wieder auslösbar wird, nur noch geringe oder keine Zunahme mehr hervor. Bisweilen nimmt die Höhe dieser Reflexe sogar etwas ab, wie z. B. in Abb. 4, D. Die mutmaßlichen Ursachen dieser Erscheinung sollen wegen ihres allgemeineren Interesses hier noch nicht erörtert werden, sondern noch der Klärung durch weitere Versuche vorbehalten bleiben. Dagegen wird die propriozeptive Reflexerregbarkeit (Muskeltonus, tonischer Ablauf des gleichseitigen Beugereflexes, gekreuzte Reflexe auf passive Bewegung des rechten Hinterbeines) noch ganz erheblich gesteigert (Abb. 4, D). Die Enthirnungsstarre tritt sofort und meistens in höherer Intensität wieder auf.

Auf der Basis dieser synergistischen Wirkung von Strychnin und Ephedrin bewirken zusätzliche kleinere Cardiazolgaben (25—50 mg/kg)

eine sehr eindrucksvolle Zunahme der exterozeptiven Reflexe, jedoch auch die propriozeptiven Reflexe werden dadurch mächtig verstärkt (Abb. 4, E). Die Enthirnungsstarre steigt bis zu völlig abnormen Intensitätsgraden.

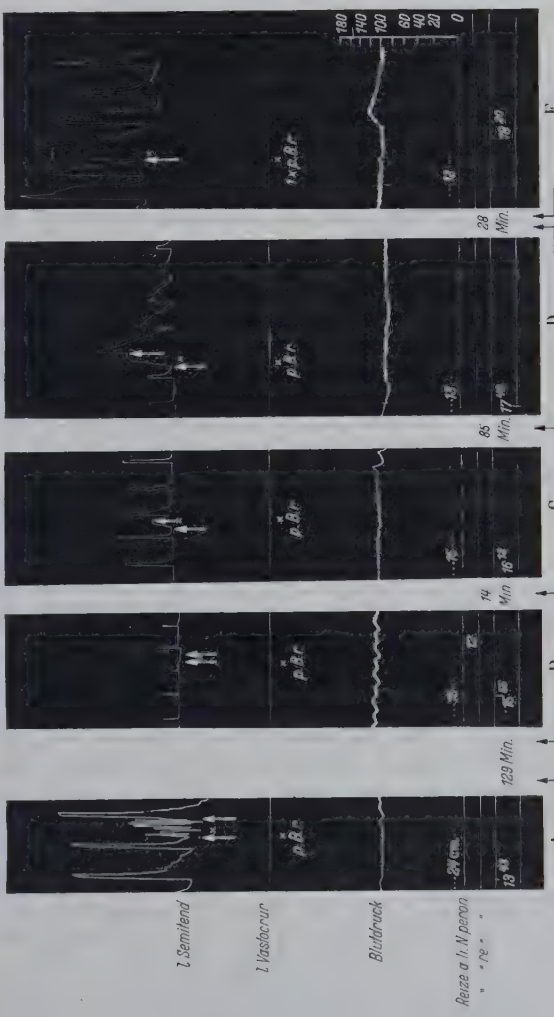


Abb. 4. Versuch vom 21. 7. 38. Katze, 3,3 kg. Dezerebrierung: Rückenmarkdurchschneidung im unteren Thorakalmark; SVP am linken Hinterlein. Allgemeine Erläuterungen zur Kurve: s. bei Abb. 1. „pBr" = passive Beugungen des rechten Hinterbeines von A bis E. Körpertemperatur 38° C. A: Vorperiode. Zwischen A und B: 129 Minuten 10 × 200 mg kg Äthylurethan i. v. (13,48—14,05). Reflexe auf sehr starke Reize erloschen. Weckversuch: 10 × 0,06 mg/kg Strychnin. nitric. (14,52, 14,55, 14,57, 15,00, 15,04, 15,09, 15,18, 15,29, 15,40, 15,50). Zwischen B und C: 14 Minuten; 5,0 mg kg l-Ephedrinhydrochlorid (16,00). Zwischen C und D: 85 Minuten; 3 × 5,0 mg kg l-Ephedrinhydrochlorid (16,34, 16,51, 17,35). Zwischen D und E: 28 Minuten; 0,06 mg/kg Strychnin. nitric. (17,50). 25 mg kg Cardiazol (18,10). (Abb. 1/3 des Originals.)

4. Die Wirkung zusätzlicher Gaben von Cardiazol und Strychnin auf der Basis der Weckwirkung des Ephedrins.

Die Weckwirkung des Ephedrins wurde bereits oben näher beschrieben und dabei auf das Auftreten tonischer Komponenten im Ablauf der exterozeptiven Reflexe, sowie auf das Wiederauftreten der propriozeptiven

Reflexe hingewiesen, und zwar bei Weckwirkungen, die bezüglich ihrer an der exterozeptiven Reflexerregbarkeit gemessenen Stärke wesentlich hinter den mit Cardiazol oder Strychnin erhaltenen Wirkungen zurückbleiben.

Injiziert man nun nach Erreichung der „Wirkungsgrenze" des Ephedrins (s. S. 581 und 582) mäßige Cardiazoldosen (z. B. 50 mg/kg), so tritt schon nach einer einmaligen solchen Dosis eine bemerkenswerte Steigerung des exterozeptiven gleichseitigen Beugereflexes ein (Abb. 1, C) und manchmal wird auch der unter Ephedrin allein meist nicht auslösbare gekreuzte Streckreflex auf Peronaeusreizung wieder erhalten (Abb. 1, C). Die tonische Verlaufsform dieser Reflexe prägt sich zugleich deutlicher aus. Außerdem aber erfahren die übrigen propriozeptiven Reflexe ebenfalls eine erhebliche Zunahme (Muskeltonus, gekreuzte propriozeptive Reflexe vom rechten Hinterbein auf den linken Vastocrureus bzw. Semitendinosus; Abb. 1, C). Wiederholung obiger Cardiazolgabe führt noch zu einer weiteren Steigerung der exterozeptiven und meistens auch der propriozeptiven Reflexe (Abb. 1, C). Die Enthirnungsstarre wird sehr verstärkt, oft bis zu der Intensität, die in der Vorperiode des Versuches vorhanden war.

Eine oder wenige kleinere Strychningaben (0,02—0,03 mg/kg) erhöhen die exterozeptiven Reflexe erheblich und auch der propriozeptiv-reflektorische Muskeltonus im rechten Hinterbein sowie im SVP (Abb. 1, D) und die gekreuzten propriozeptiven Reflexe werden noch intensiver.

In wenigen Fällen nimmt jedoch nach den zusätzlichen Strychningaben die Höhe der exterozeptiven Beugereflexe erheblich ab (so z. B. im Teil D der Abb. 1). Eine ähnliche Erscheinung wurde bereits auf S. 594 beschrieben. Die Ursachen dieser Erscheinung, welche sicherlich nicht als zentrale Lähmung zu deuten ist, sollen in besonderen Versuchen geklärt werden.

IV. Ergebnisse.

Aus den beschriebenen Versuchen geht hervor, daß das Ephedrin unter den von uns eingehaltenen Versuchsbedingungen aus Narkosen von bestimmter, nicht zu großer Tiefe eine gewisse Reflexerregbarkeit des Rückenmarkes wiederzuerwecken vermag. Das Mittel greift also nicht nur an den höheren Hirnabschnitten an, wie die Weckversuche am intakten Tier[4–7] gezeigt haben, sondern es übt auch am Rückenmark eine erregende Wirkung aus.

Es ist für weitere Überlegungen nicht unwichtig, daß diese Weckversuche am Rückenmark mit hohen, fraktioniert verabreichten Ephedringaben zu der Feststellung führen, daß das Mittel eine absolute „Wirkungsgrenze" aufweist, d. h. daß von einer bestimmten Gesamtdosis ab weitere Ephedringaben keine weitere Zunahme des gleichseitigen exterozeptiven Beugereflexes und keine weitere Steigerung der propriozeptiven Reflexerregbarkeit mehr hervorbringen. In bezug auf das Auftreten einer „Wirkungsgrenze" verhält sich also das Ephedrin analog dem Cardiazol und Strychnin.

Im Unterschied zu Cardiazol und Strychnin, welche bei vergleichbaren Narkosetiefen keine nennenswerte Wirkung auf die propriozeptive Reflexerregbarkeit haben, läßt das Ephedrin eine deutliche Wirkung auf die Erregbarkeit der tonischen propriozeptiven Reflexe erkennen. Man darf darin um so mehr eine Besonderheit der Wirkung des Ephedrins (und mancher strukturverwandter Körper[12, 13]) sehen, als sich der Einfluß auf die phasischen exterozeptiven Reflexe als verhältnismäßig schwach im Vergleich zu Cardiazol und Strychnin erweist, so daß also die Ursache der Steigerung der propriozeptiven Reflexe nicht in einer allgemein stärker erregenden Wirkung liegen kann.

Der qualitative Wirkungsunterschied des Ephedrins gegenüber Cardiazol und Strychnin findet auch darin Ausdruck, daß es bei jeder beliebigen Reihenfolge in der Kombination mit jeder einzelnen dieser beiden Substanzen und mit beiden zusammen einen auffallenden Synergismus erkennen läßt. Gerade diese Kombinationsversuche zeigen in sehr ausgeprägter Form die besonderen Eigenschaften der Ephedrinwirkung. Während nämlich durch Cardiazol oder Strychnin unter den gesetzten Versuchsbedingungen die propriozeptiven Reflexe so gut wie gar nicht, durch die Kombination beider Mittel nur sehr unvollständig erweckt werden (bei sehr starker Wirkung auf die phasischen exterozeptiven Reflexe), wird durch das Hinzutreten von Ephedrin stets eine sehr eindrucksvolle Steigerung der tonischen propriozeptiven Reflexe hervorgebracht. Für die in der Einleitung aufgeworfenen Fragen führen die Versuchsergebnisse also zu folgender Antwort:

Unter der Weckwirkung von Erregungsmitteln am narkotisierten Rückenmark verläuft die Wiedererweckung der propriozeptiven Erregbarkeit tonischer Reflexe nicht parallel der Größe der exterozeptiven Reflexerregbarkeit. Es kann nach den mit Ephedrin und einigen strukturverwandten Körpern vorliegenden Resultaten noch nicht entschieden werden, ob eine Auslösbarkeit allein der propriozeptiven tonischen Reflexe bei weiterbestehender vollständiger narkotischer Lähmung der exterozeptiven Reflexe grundsätzlich möglich ist. Das verschiedene Verhalten der beiden Reflexkategorien im Weckversuch mit verschiedenen zentralangreifenden Analeptica zeigt jedoch bereits mit hinreichender Deutlichkeit, daß die Wiederherstellung der propriozeptiven tonischen Reflexe auf einer besonderen pharmakologischen Reaktion an rückenmarkseigenen Elementen beruht.

Die zentralerregende Wirkung des Ephedrins und einiger strukturverwandter Stoffe zeigt als besonderes Charakteristicum die Wirksamkeit an den Bögen der tonischen propriozeptiven Reflexe.

Weiterhin können wir auf Grund unserer Versuchsergebnisse auch die einleitend erwähnte Beobachtung von Hinsey, Ranson und Zeiss[3] über das Wiederauftreten der „Stützreaktion" am dekapitierten Hund unter Ephedrinwirkung dahin interpretieren, daß hierbei weniger die

Kreislaufwirkung des Ephedrins eine Rolle spielt als vielmehr seine besonders auf die tonischen propriozeptiven Reflexe gerichtete Wirkung.

Bei den Überlegungen zur Frage des Angriffspunktes des Ephedrins im Rückenmark wird seine enge Beziehung zu den Bögen der tonischen propriozeptiven Reflexe im Vordergrund stehen müssen. Man wird dabei jedoch, ebenso wie bei der Deutung seines Synergismus mit Cardiazol und Strychnin, berücksichtigen müssen, daß Cardiazol und Strychnin neben ihrer hervorstechenden Wirkung auf die phasischen exterozeptiven Reflexe auch eine erhebliche Verstärkung der durch vorangegangene Ephedringaben erweckten propriozeptiven Reflexe hervorbringen. Schließlich muß festgehalten werden, daß das Ephedrin eine gewisse Wirksamkeit auch auf die exterozeptiven Reflexe hat, die es an ihnen sowohl allein als auch in Kombination mit Cardiazol und Strychnin zeigt, die aber im letzteren Falle ihre Grenze bei kleineren Dosen erreicht, als sie der oben erwähnten „Wirkungsgrenze" entsprechen.

Unsere bisherigen Beobachtungen und Ausführungen waren im Hinblick auf den Ausgangspunkt der Untersuchung über die spinale Ephedrinwirkung auf solche Reaktionen innerhalb der Kategorie der „propriozeptiven" Reflexe abgestellt, welche durch einen „tonischen" Charakter ausgezeichnet sind. Die normalerweise nicht tonischen propriozeptiven Reflexe vom Charakter der „Sehnenreflexe", welche sich in einer kurzen Muskelzuckung äußern und demnach den „phasischen" Reflexen zugehören (von P. Hoffmann[15] als „Eigenreflexe der Muskeln" bezeichnet), bleiben hier außer Betracht. Über das Verhalten dieser Reflexe konnten wir bei unseren Versuchen bereits eine Reihe von Beobachtungen machen. Ihre systematische Untersuchung unter Beibehaltung der bisher durchgeführten Reflexregistrierung erfordert jedoch besondere technische Vorkehrungen, so daß die „Sehnenreflexe" im Rahmen dieser Arbeit nicht mehr behandelt werden können.

V. Zur Frage der Lokalisation des Angriffspunktes des Ephedrins im Rückenmark.

Der Versuch einer Erklärung der charakteristischen Ephedrinwirkungen auf das Rückenmark hängt mit der Frage nach dem Angriffspunkt eng zusammen. Den Ausgangspunkt bilden Erfahrungen und Vorstellungen über die Narkose zentralnervöser Reflexbögen, über den Aufbau der propriozeptiven Bögen tonischer Reflexe sowie ihrer Beziehungen zu den Bögen der exterozeptiven phasischen Reflexe und über den Mechanismus der Weckwirkung von Erregungsmitteln an Reflexbögen.

Die der Interpretation der experimentellen Beobachtungen zugrundegelegte Anschauung über die narkotische Leitungsunterbrechung eines Reflexbogens wurde früher dargestellt[16].

Es wurden damals bereits Beobachtungen über das Verhalten einiger spinaler Reflexe in der Narkose mitgeteilt, die geeignet sind, diese Anschauung zu stützen[2]. Im Verlauf der jetzt von uns ausgeführten Versuche

[15] Hoffmann, P.: Untersuchungen über die Eigenreflexe (Sehnenreflexe) menschlicher Muskeln. Berlin 1922. — [16] Vgl. 2, S. 436.

konnten wir wiederholt die Beobachtung machen, daß die sogen. „Sehnenreflexe" (Patellarreflex), deren Bahn als die kürzeste, d. h. als nur aus einem afferenten und einem efferenten Neuron bestehend angesehen wird[17], auch in den größten von uns erreichten Narkosetiefen, in denen keine anderen extero- oder propriozeptiven Reflexe mehr auslösbar waren, nicht vollständig erloschen sind. Auch dieser Befund fügt sich den Vorstellungen über die Narkosewirkung an Reflexbögen gut ein.

Über den Verlauf und den Neuronenaufbau der Bahnen der von uns untersuchten gleichseitigen und gekreuzten tonischen propriozeptiven Reflexe scheinen genauere, auch physiologisch begründete Angaben nicht vorzuliegen.

Die reflexauslösenden Reize für die propriozeptiven und exterozeptiven Reaktionen müssen entsprechend ihrem Ursprung aus rezeptorischen Endorganen ganz verschiedener physiologischer Bedeutung auch in verschiedenen zentripetalen Neuronen dem Rückenmark zugeleitet werden. Innerhalb des Rückenmarkes muß dann eine Konvergenz beider Reflexbahnen auf die ihnen beiden dienenden motorischen Neurone stattfinden. Ihre „gemeinsame Strecke" (Sherrington) kann entweder erst im motorischen Neuron selber oder aber schon an einem weiter dorsal gelegenen Schaltneuron beginnen. Diese Frage wird später kurz zu prüfen sein.

Aus der beträchtlichen Narkoseempfindlichkeit der tonischen propriozeptiven Reflexbögen, welche etwa auf derselben Stufe steht wie die des gekreuzten exterozeptiven Streckreflexes (vgl. S. 586), glauben wir schließen zu dürfen, daß sie wie die letztere Reflexbahn aus etwa fünf Neuronen bestehen müssen[18], zumal keine Anzeichen dagegen sprechen, daß die motorischen Neurone der gewählten Testmuskeln wirklich im Zentrum des „Reflexfeldes"[19] liegen.

Die schematische Abb. 5 veranschaulicht unsere Vorstellung vom Aufbau der propriozeptiven Reflexbögen. Sie enthält folgende Elemente[20]: das afferente Neuron des sensiblen Nerven (I_3—I_5), zwei Schaltneurone (II_2—II_4 und III_1 und III_2), ein kleines Schaltneuron (m_1 und m_2; von Monakows „Binnensystemzellen") und das motorische Neuron (IV_1 und IV_2). In das Schema sind ferner auch die exterozeptiven Reflexbögen (I_1—II_1) und I_7—II_5—s eingezeichnet[18], da deren Verhalten bei der Interpretation der Versuchsergebnisse eine Rolle spielt.

Über den Mechanismus der Weckwirkung zentraler Erregungsmittel, deren Angriff auf ein einzelnes Neuron beschränkt ist, wurde an Hand

[17] Vgl. 15, S. 101. — [18] Vgl. 2, S. 437 u. 438. — [19] Creed, R. S., D. Denny-Brown, J. C. Eccles, E. G. T. Liddell u. C. S. Sherrington: Reflex Activity of the Spinal Cord. Oxford 1932 (vgl. 2, S. 394). — [20] Die Zeichnung dient nur der Veranschaulichung für die späteren Ableitungen. Das Schema wurde in Analogie zu den physiologisch ausführlicher fundierten Kenntnissen der exterozeptiven Bögen entworfen. Der Versuch, weitere und möglichst auch morphologische Unterlagen über den Bau der propriozeptiven Bögen zu gewinnen, muß einer späteren Untersuchung vorbehalten bleiben.

der spinalen Wirkungen von Cardiazol und Strychnin eine Anschauung entwickelt, die den experimentellen Tatsachen gerecht werden konnte[2].

Auf der Basis dieser begründeten Anschauung kann man nun einen Schritt weitergehen und die Untersuchung eines zentralen Erregungsmittels auf seine Weckwirkung an verschiedenen narkotisierten Reflexbögen als Hilfsmittel bei der Frage nach seinem spinalen Angriffspunkt heranziehen. Dabei kann man durch geeignete Kombinationen mit Substanzen, deren Angriffspunkt genauer bekannt ist, aus den auftretenden Synergismen

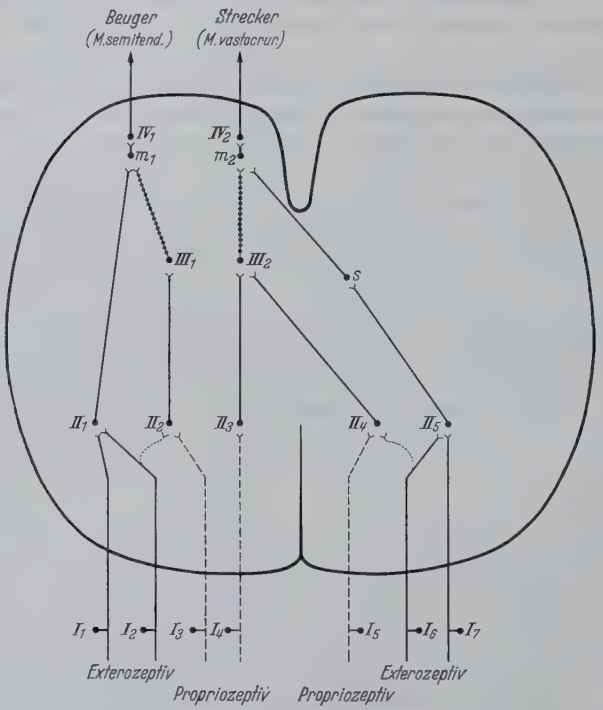


Abb. 5. Erläuterungen im Text.

mit Vorsicht noch einige weitere Rückschlüsse über die Lage des Angriffspunktes gewinnen.

Sowohl die qualitativen Wirkungsunterschiede des Ephedrins gegenüber Cardiazol und Strychnin als auch seine sehr ausgeprägte synergistische Wirkungssteigerung mit diesen beiden Substanzen führen zu der einfachen Folgerung, daß der Hauptangriffspunkt des Ephedrins weder mit demjenigen des Cardiazols noch mit dem des Strychnins zusammenfällt. Die Tatsache, daß die Kombination zweier Stoffe wie Cardiazol und Strychnin, deren Wirkung im wesentlichen auf je ein Neuron

beschränkt ist, aus der Narkose eine sehr hochgradige exterozeptive Reflexerregbarkeit bei nur schwacher Wirkung auf die propriozeptiven Reflexe wiederherstellen kann, erweist zum mindesten, daß eine von der propriozeptiven weitgehend unabhängige exterozeptive Reflexbahn existiert (Abb. 5). Andererseits zeigt das Ephedrin, welches aus der Narkose deutliche propriozeptive Reflexe bei gleichzeitig ziemlich schwacher Wirkung auf die exterozeptive Reflexerregbarkeit erweckt, daß das Wiederauftreten propriozeptiver Reflexe die volle Funktionsfähigkeit der exterozeptiven Reflexbahn weder erfordert noch unbedingt mit sich bringt. Der propriozeptive Reflex zeigt also pharmakologisch eine Selbständigkeit, und wir können daraus schließen, daß der charakteristische Angriffspunkt des Ephedrins (ferner auch der des Veritols[12] und einiger anderer strukturverwandter Körper[13]) in der Hauptsache ein Element sein muß, welches nur der propriozeptiven Reflexbahn angehört, welches also dorsal von dem Konvergenzpunkt des afferenten exterozeptiven und propriozeptiven Bogens liegen muß. Das Auftreten einer „Wirkungsgrenze" im Weckversuch mit Ephedrin sowohl bei den propriozeptiven wie auch bei den exterozeptiven Reflexen spricht gleichfalls für eine derartige räumliche Begrenzung der Ephedrinwirkung innerhalb der Reflexbögen, wobei auf die prinzipielle Analogie zu den Ergebnissen mit Cardiazol und Strychnin hingewiesen werden kann.

Die Feststellung, daß das Ephedrin hauptsächlich an einem Neuron des propriozeptiven afferenten Bogens angreift und daß der Angriffspunkt bestimmt nicht mit dem des Cardiazols und des Strychnins übereinstimmt, gestattet es, den Wirkungsort innerhalb der beschränkten Neuronenzahl der Reflexbögen noch näher zu umgrenzen.

Der Angriffspunkt des Cardiazols ist das am weitesten ventral gelegene motorische Neuron (Abb. 5; IV_1 und IV_2) oder die davorliegende Binnensystemzelle (m_1 und m_2)[2]. Der für die charakteristische Ephedrinwirkung in Betracht kommende Angriffspunkt, welcher, wie oben begründet, außerdem auch dorsal von dem Konvergenzpunkt der afferenten propriozeptiven und exterozeptiven Bögen liegen muß, kann also nur dorsal von den motorischen Elementen gesucht werden. Die Versuche haben weiterhin ergeben, daß das Strychnin im Synergismus mit Ephedrin ebenfalls die tonischen Reflexe steigert, ihre afferenten Bögen müssen also (im Gegensatz zu denen der Sehnenreflexe[21]) ein strychninempfindliches Schaltneuron enthalten, welches in Anbetracht des getrennten Verlaufes der afferenten Bögen propriozeptiver und exterozeptiver Reflexe ein besonderes Neuron sein muß, welches nicht zugleich den exterozeptiven Bögen angehören kann (Abb. 5; II_2—II_4). Da nun nach unseren derzeitigen Kenntnissen die auf Strychnin reagierenden Schaltneurone die intraspinal am weitesten dorsal gelegenen Reflexbogenelemente sind (II_1—II_5), müssen wir schließen, daß

[21] Vgl. 15, S. 87.

das durch Ephedrin erregte Neuron der propriozeptiven Reflexbögen ventral von dem strychninempfindlichen Schaltneuron zu lokalisieren ist. Es bleibt in Anbetracht der begrenzten Neuronenzahl, die wir dem Reflexbogen nach seiner Narkoseempfindlichkeit zuschreiben müssen, nur ein in Abb. 5 mit III_1 und III_2 bezeichnetes Schaltneuron als Angriffspunkt des Ephedrins übrig.

Einer besonderen Erörterung bedürfen noch die Beziehungen des Ephedrins zu den Bahnen der phasischen exterozeptiven Reflexe, nämlich die Tatsachen, daß das Ephedrin allein eine mäßige Weckwirkung auch auf die exterozeptiven Reflexe ausübt und daß nach vorangegangenen hohen Gaben von Cardiazol oder Strychnin zusätzliche Ephedringaben eine deutliche Höhenzunahme der exterozeptiven Reflexe zur Folge haben. Dabei ist weiterhin zu beachten, daß unter diesen Umständen die Reflexzunahme schon nach kleineren Ephedrindosen, als sie der „Wirkungsgrenze" bei alleiniger Ephedrinanwendung entsprechen, nicht mehr fortschreitet (zusätzliche Anwendung von Strychnin bzw. Cardiazol führt dann zu wesentlicher Steigerung der exterozeptiven Reflexe!) (vgl. S. 590—594). Die unter der gemeinsamen Wirkung von Cardiazol und Strychnin erweckten hohen exterozeptiven Reflexe erfahren durch Ephedrin fast keine Steigerung mehr (vgl. S. 590).

Es ist nun bekannt, daß in besonders gut erregbaren narkosefreien Reflexpräparaten ein rein exterozeptiv ausgelöster, phasischer Reflex des öfteren eine ausgesprochene tonische Komponente in seinem Ablauf zeigt. Das gilt besonders für den gekreuzten exterozeptiven Streckreflex, ist aber auch für den gleichseitigen exterozeptiven Beugereflex bekannt. Man muß daraus in Übereinstimmung mit anderen Autoren schließen, daß ein Übergang exterozeptiver Impulse auf die propriozeptive Bahn der tonischen Reflexe stattfindet (vgl. Abb. 5). Die tonische Komponente der phasischen Reflexe ist jedoch am narkosefreien Rückenmark meistens so gering, daß daraus auf einen nur mäßigen Durchgang exterozeptiver Impulse durch den propriozeptiven Nebenweg geschlossen werden kann.

Eine derartige Schaltung macht es verständlich, daß das Ephedrin zwar Weckwirkungen auf die exterozeptiven Reflexe ausübt, daß diese jedoch relativ schwach sind und im Synergismus mit Cardiazol und Strychnin ebenfalls ziemlich gering bleiben.

In bezug auf die Ephedrinwirkung an den exterozeptiven Bögen erscheint es zweckmäßig, noch ein anderes Moment zu berücksichtigen.

Betrachtet man die Weckwirkung des Ephedrins am narkotisierten Rückenmark nicht für sich allein, sondern zieht die Wirkung strukturverwandter Substanzen, von denen eine größere Anzahl untersucht wurde [12, 13], zum Vergleich heran, so läßt sich folgendes feststellen:

In deutlicher Abhängigkeit von gewissen Merkmalen der chemischen Struktur zeigen viele derartige Stoffe in ihrer (an sich verschieden starken) zentralerregenden Wirkung am narkotisierten Rückenmark als gemeinsames Merkmal eine „Ephedrinwirkung", d. h. sie haben sowohl allein als auch in Kombination mit Cardiazol

und Strychnin eine verschieden starke, aber deutlich ausgeprägte Wirkung auf die propriozeptive Reflexerregbarkeit. Daneben wirken diese Stoffe auch auf die Erregbarkeit exterozeptiver Reflexe, sie weisen hier jedoch ganz außerordentlich starke Unterschiede auf und es gibt in dieser Reihe Stoffe, bei denen eine recht beträchtliche Wirkungsstärke an den exterozeptiven Reflexen festzustellen ist, welche die des Ephedrins ganz erheblich überschreitet. Es erscheint uns zulässig, die im Vergleich zu der sehr variablen Wirksamkeit an den exterozeptiven Bögen in nicht so weiten Grenzen schwankende Wirkung auf die propriozeptive Reflexerregbarkeit als ein gemeinsames pharmakologisches Merkmal dieser chemisch strukturverwandten Stoffe anzusehen.

Die starken Wirkungen, welche einige dieser Stoffe (z. B. Benzedrin, Pervitin) auch auf die exterozeptiven Reflexe ausüben, können wir bis jetzt nur so deuten, daß derartige Stoffe neben ihrem Angriff an einem Neuron, welches allein den propriozeptiven Bögen angehört, auf Elemente übergreifen, welche exterozeptiven Bögen angehören.

Mit Rücksicht auf die Beobachtungen an den ephedrinverwandten Substanzen halten wir auch beim Ephedrin selber ein mäßiges Übergreifen seiner erregenden Wirkung auf exterozeptive Reflexbogenelemente für sehr wahrscheinlich. Die dann vorhandene Überschneidung seiner „Nebenangriffspunkte" mit denen des Cardiazols und des Strychnins wäre gut zu vereinbaren mit dem nur begrenzten Synergismus, den es mit diesen Stoffen an den exterozeptiven Reflexen zeigt. Das würde auch die Differenz verständlich machen, die zwischen der der „Wirkungsgrenze" entsprechenden Dosis und den Dosen, bis zu welchen noch eine synergistische Wirkung nachgewiesen werden kann, besteht (vgl. S. 602).

Es erscheint uns im gegenwärtigen Zeitpunkt noch nicht möglich, in eine Erörterung über den Mechanismus der Ephedrinwirkung auf die Erregungsübertragung an den intrazentralen Synapsen spinaler Reflexbögen einzutreten. Aus den interessanten Befunden von Gaddum und Kwiatkowski[22] über die Ephedrinwirkung an adrenergischen Übertragungsmechanismen sollen, obwohl gerade unsere Ergebnisse mit einer Anzahl ephedrinverwandter Körper es nahelegen, noch keine Folgerungen über den Mechanismus der zentralnervösen Ephedrinwirkung gezogen werden, da die Existenz adrenergischer Mechanismen innerhalb des ZNS noch nicht sicher erwiesen ist.

Es ist uns an der dezerebrierten Katze bis jetzt nicht gelungen, eine der von höheren Abschnitten des ZNS spinalwärts verlaufenden Bahnen, die den Impulsen für tonische Muskelreaktionen dienen, von der Fläche des Dezerebrierungsquerschnittes aus hinreichend isoliert zu reizen. Damit entfällt vorerst die Möglichkeit, zu prüfen, ob das ephedrinempfindliche Element der spinalen tonischen Reflexbögen zugleich ein Glied einer vom Hirn absteigenden Bahn ist. Es steht also ein weiterer Faktor zur genaueren Ortsbestimmung für den Hauptangriffspunkt des Ephedrins im Rückenmark (nach einer Methode, die der für das Cardiazol angewandten analog wäre) noch aus. Da jedoch zeitbedingte äußere Umstände eine Fort-

[22] Gaddum, J. H., u. H. Kwiatkowski: J. Physiol. (Brit.) **94**, 87 (1938).

führung der Untersuchung zur genaueren Lokalisierung der spinalen Ephedrinwirkung vorläufig nicht gestatten, teilen wir die bisher erreichten Resultate mit.

Die experimentellen Arbeiten wurden Ende August 1939 unterbrochen, die Niederschrift dieser Arbeit erfolgte im Herbst 1941.

Zusammenfassung.

Ausgehend von früheren Beobachtungen über die Weckwirkung von Pentamethylentetrazol (Cardiazol), Strychnin und Nikotinsäurediäthylamid (Coramin) auf das narkotisierte Rückenmark der Katze ergibt sich die Frage, ob das früher beobachtete Auftreten eigenartiger tonischer Starren der Extremitäten, deren propriozeptiv-reflektorischer Ursprung von vornherein wahrscheinlich erschien, nur an dezerebrierten Tieren möglich ist oder ob stärkere tonische propriozeptive Reflexreaktionen auch an rein spinalen Präparaten aus der Narkose durch Erregungsmittel erweckt werden können, ob somit eine derartige pharmakologische Reaktion als Besonderheit gewisser rückenmarkseigener Zellelemente und als besondere Eigenschaft einzelner Pharmaka anzusehen ist.

Auf Grund vorliegender Beobachtungen wurde für die Untersuchung das Ephedrin gewählt. Seine Weckwirkung gegenüber der Narkose des isolierten unteren Rückenmarkes der Katze wurde im Vergleich zur Wirkung von Cardiazol und Strychnin und in Kombination mit diesen beiden Stoffen untersucht. Die Narkose der spinalen Präparate wurde mit Äthylurethan, Avertin oder Pernocton ausgeführt.

Als Testreaktion dienten einige exterozeptive phasische Reflexe und einige propriozeptive tonische Reflexe, welche an den Hinterextremitäten ausgelöst werden können.

Auf die Erregbarkeit exterozeptiver Reflexe übt das Ephedrin eine Weckwirkung von nur mäßiger Stärke aus. Steigerung der Dosen über 25—30 mg/kg hinaus führt zu keiner weiteren Reflexzunahme, so daß also eine absolute „Wirkungsgrenze“ existiert (analog den früheren Befunden für Cardiazol und Strychnin). Ein nennenswerter Wirkungsunterschied zwischen l- und d-Ephedrin scheint nicht zu bestehen.

Der Ablauf der durch Ephedrin erweckten exterozeptiven Reflexe läßt deutlich eine tonische Komponente erkennen. Der propriozeptiv-reflektorische Muskeltonus und gekreuzte propriozeptive Reflexe werden aus Narkosetiefen wiederhergestellt, bei denen Cardiazol und Strychnin in dieser Beziehung kaum noch eine Wirkung zeigen.

Cardiazol und Strychnin haben allein und miteinander kombiniert bei starker Steigerung exterozeptiver phasischer Reflexe keine oder eine nur sehr geringe Wirkung auf die tonischen Reflexe. Im Zusammenwirken mit diesen beiden Mitteln, und zwar mit jedem derselben allein, oder mit beiden zusammen und bei jeder beliebigen Reihenfolge der Kombination.

wird durch das Ephedrin stets eine sehr eindrucksvolle Weckwirkung an den propriozeptiven tonischen Reflexen hervorgerufen.

Die eingangs aufgeworfenen Fragen sind dahin zu beantworten, daß auch an rein spinalen Präparaten tonische propriozeptive Reflexreaktionen aus der Narkose erweckt werden können, daß diese eine besondere pharmakologische Wirkung an rückenmarkseigenen Zellelementen darstellen und daß diese Eigenschaft nicht allen zentralen Erregungsmitteln in gleicher Weise zukommt. Als in dieser Beziehung besonders wirksam erwiesen sich das Ephedrin sowie eine Anzahl strukturverwandter Körper.

Unter Berücksichtigung der als hinreichend bekannt anzusehenden Angriffspunkte des Cardiazols und Strychnins und der früher begründeten Ansichten über den Mechanismus ihrer Weckwirkung an den Reflexbögen des narkotisierten Rückenmarkes werden aus den Versuchsergebnissen Schlüsse über die wahrscheinliche Lage des Angriffspunktes des Ephedrins im Rückenmark gezogen.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Freiburg i. Br.
(Direktor: Prof. Dr. S. Janssen.)

Der Einfluß des Insulins auf die Mast nach Hunger.

Von

Alfred Enders.

(Eingegangen am 9. April 1942.)

Schon bald nach seiner Entdeckung wurde das Insulin nicht nur bei der Therapie des Diabetes mellitus verwendet, sondern auch für die Behandlung anderer Erkrankungen vorgeschlagen. Mariott (1) regte an, den Appetit unterernährter Kinder durch Insulinverabreichung zu heben. Falta, der schon lange die Ansicht vertreten hatte, bei der Aetiogenese bestimmter Fälle von Fettsucht sei ein Hyperinsulinismus anzuschuldigen, berichtete [1925 (2)] von großen Erfolgen bei sogenannten Mastkuren mit Insulin. Diese Kuren haben sich in der Zwischenzeit einen festen Platz in der Behandlung von Rekonvaleszenten und Magersüchtigen gesichert, der Gewichtsanstieg nach Insulinapplikation wurde von vielen Nachuntersuchern bestätigt. Es blieb allerdings offen, ein wie großer Teil dieses Gewichtsansatzes auf Fetteinlagerung einerseits, auf Wasserspeicherung andererseits beruht. Diese und andere Fragen der Insulinmastkur suchten zahlreiche experimentelle Befunde zu klären.

Der Anstieg des respiratorischen Quotienten während der Insulinverabreichung sprach für eine Umwandlung der Kohlehydrate in Fett [Lublin (3)], d. h. für eine echte Mast, gegen einen Gewichtsanstieg durch Wasseranlagerung. Schellong (4) berichtete von einer beschleunigten Zuckermobilisation durch Insulin; dieser Befund ist als ein begünstigender Faktor für die Umwandlung des Zuckers in Fett anzusehen. Baer und Mitarbeiter (5) fanden eine Fettbildung aus Kohlehydraten unter Insulineinfluß im Fettgewebe der Ratte. Sopp und Selbach (6) untersuchten die Wirkung des Insulins auf die Glykogenmast nach Hunger bei Hunden. Unter anderem wurde der Fett- und Wassergehalt der einzelnen Organe bestimmt. Während ein geringer Mehrgehalt an Wasser in der Leber von den Verfassern für nicht bedeutsam gehalten wird, ergab sich eine deutliche Abnahme des Fettgehalts der Leber, eine Zunahme des Fettgehalts der Muskulatur gegenüber den Verhältnissen nach Glykogenmast ohne Insulinverabreichung. Neben diesen mehr indirekten experimentellen Bestätigungen des Wertes der Insulinmastkur existieren zahlreiche Versuche, bei Tieren eine Gewichtszunahme durch Insulinverabreichung zu erzielen. Baer und Mitarbeiter (7) fanden an 3 Hunden Gewichtsansatz, während andere Forscher [Macleod u. Mitarbeiter (8); Long u. Mitarbeiter (9)]

an Schweinen und Kaninchen keine Förderung des Körpergewichts nach Insulinmastkuren feststellen konnten. Auch Versuche an Ratten sprachen gegen einen positiven Einfluß des Insulins auf das Körpergewicht und den Fettansatz. Goldblatt und Ellis (10) erhielten an wachsenden Ratten nach Insulin (bis 50 E täglich) keinen stärkeren Gewichtsansatz gegenüber den Kontrollen. Nitschke (11) untersuchte den Gewichtsanstieg und Fettansatz von Ratten, die mehrere Tage gehungert hatten; beide Größen waren bei Verabreichung kleiner Dosen von Insulin — 3 E am Tag bei etwa 200 g schweren Ratten — sogar geringer als die von entsprechenden Kontrolltieren. Auch die Applikation von größeren Mengen Insulin — bis 5 E pro 100 g Ratte — hatte nach den Ergebnissen von Mac Kay u. Mitarbeiter (12) keinen Erfolg. Onohara (13) fand den Fettgehalt von Ratten bei Avitaminosen durch Insulinverabreichung gegenüber den Kontrollen nicht erhöht. Erst durch die Verwendung von Depotinsulin gelang es Mac Kay und Mitarbeiter (12) an teilweise allerdings noch wachsenden Ratten eine erhöhte Gewichtszunahme gegenüber den Kontrollen zu erzielen. Während solcher Mastkuren betrug die tägliche Gewichtszunahme der Kontrolltiere 0,5—4 g, die mit Protamin-Zink-Insulin gespritzten Tiere nahmen täglich um 2—8 g zu. Ähnliche Unterschiede fanden sich in der Nahrungsaufnahme. Die Werte streuen also sehr, die höchsten der Kontrolltiere übertreffen die niederen Werte der mit Depotinsulin behandelten Ratten um ein beträchtliches. Auch verwendeten diese Autoren Tiergruppen von nur 3—6 Ratten gleichen Gewichts in der jeweiligen Versuchsserie. Trotz dieser Einwände zweifeln wir diese Befunde um so weniger an, da wir unter Verwendung einer besonderen Versuchsanordnung auch mit einfachem Insulin Ergebnisse erzielten, die in die gleiche Richtung weisen.

Am erfolgversprechendsten schien uns dabei der Ausbau der von Nitschke (11) angewendeten Methode zu sein. Nitschke arbeitete mit gleichaltrigen 180 g schweren Ratten, die zuvor 4 Tage vollständig gehungert hatten. Während der nachfolgenden, 10 Tage dauernden Mast wurde den Tieren täglich morgens 1 und abends 2 E Insulin gespritzt. Diese Versuchsanordnung hat den Vorzug, die Verhältnisse nachzuahmen, die wir bei Anwendung der Insulinmastkur beim Menschen finden: die Patienten, in unserem Fall die Ratten, sind bei Beginn der Kur in reduziertem Ernährungszustand. Dies ist ein Vorzug gegenüber Versuchen mit Insulin, bei denen völlig normale, nicht krankhaft veränderte Ratten Verwendung finden. Im Gegensatz zu Nitschke verwendete ich jedoch nur Ratten, die völlig erwachsen waren. Unter Beendigung des Wachstums wurde nicht abgeschlossene Organdifferenzierung, sondern Stillstand der Gewichtszunahme verstanden. Nur Ratten, die mindestens 8 Wochen lang geringere Gewichtsdifferenzen als $\pm$ 10 g gezeigt hatten, wurden verwendet. Um Ratten mit abnormer Reaktion — schlechte Verträglichkeit der 4 Tage Hunger usw. — auszuscheiden, hatten alle Tiere in Vorversuchen

2mal in Abständen von 3 Wochen 4 Tage lang gehungert und waren dann 10 Tage gemästet worden.

Weitere Vorversuche wurden angestellt, um eine möglichst günstige Dosierung des Insulins zu erzielen. Ich konnte dabei die Angaben von Nobel und Priesel (14) bestätigen und erweitern. Bei unseren erwachsenen (300 g schweren), männlichen Albinoratten betrug die mittlere letale Dosis bei subcutaner Injektion etwa 60—70 E Insulin, eine, selbst unter Berücksichtigung der fettreichen Kost, die nach Abderhalden und Mitarbeiter (15) die Insulinempfindlichkeit herabsetzt, im Verhältnis zum Menschen enorme Menge. Auch erwies sich die Streuung als sehr groß. Neben Tieren, die noch 80 E vertrugen, ohne auch nur Krämpfe zu bekommen, fanden sich Ratten, die schon bei 30 E unter den bekannten Erscheinungen starben. Darüber hinaus fiel die beträchtliche intraindividuelle Streuung auf: Ratten, die mehrfach eine bestimmte Menge Insulin, z. B. 20 E, vertragen hatten, starben, trotz genügendem Zeitabstand, bei einer weiteren Injektion der gleichen Menge. Man kann nun ohne weiteres annehmen, daß dieser großen und wechselnden Empfindlichkeit auf toxische Gaben eine ebenso große Streuung der therapeutisch wirksamen Insulinmengen entspricht; dies vor allem bei einer Insulinmastkur an Tieren, speziell Ratten, bei denen nicht in dem bei Menschen üblichen Maße elastisch dosiert werden kann. Ohne Rücksicht auf die jeweilige Dosierung werden bei jeder mit Insulin behandelten Gruppe von Ratten Tiere vertreten sein, für die die angewandte Menge Insulin zu groß, andere, für die sie zu gering ist. Positive Resultate sind also nur bei einer nicht zu gering bemessenen Anzahl von Versuchstieren zu erwarten. Weiter folgt, daß Insulinmengen von 3 E am Tag (11) zu klein waren und deshalb wohl keinen erhöhten Gewichtsanstieg herbeiführten. Für unsere Versuche wählte ich eine Dosis von zweimal 10 E am Tag. Es war dies die größte Menge, die von der überwiegenden Zahl der Ratten ohne weiteres vertragen wurde und einen günstigen Einfluß auf den Gewichtsanstieg während der Mast nach 4 Hungertagen erwarten ließ. Auch Cori (16) verwandte bei seinen Versuchen über den Insulineinfluß auf die Zuckerverbrennung bei Ratten 20 Einheiten Insulin. Um ein möglichst vollständiges Bild zu gewinnen, wurde außer der laufenden Kontrolle der Körpergewichte der Versuchstiere auch deren Nahrungsaufnahme bestimmt und am Schluß der Mast bei einem Teil der Ratten der gesamte Körper auf seinen Fett- und Wassergehalt untersucht. Im einzelnen gestaltete sich die Methodik wie folgt:

Die Versuchstiere, erwachsene, weiße, männliche Ratten, im Gewicht von 250—400 g wurden in Einzelkäfigen aus Drahtgeflecht gehalten. Die Nahrung bestand aus einem Brot folgender Zusammensetzung: Maismehl 700 g, Trockenmilch 300 g, Kochfett (Gemisch aus Schweine- und Rinderfett 1 : 1) 500 g, Trockenhefe 75 g, Mischsalz nach Mc Collum 15 g, Lebertran 20 g. Mit 250 ccm Wasser wurde ein Teig angerührt, der auf ein Blech gestrichen und gebacken wurde. Die Ratten erhielten außerdem zweimal in der Woche Löwenzahnblätter; Wasser, auch während des Hungerns, nach Belieben. Nur erwachsene Ratten wurden in Versuch

genommen, d. h. Tiere, die während mindestens 4 Wochen keinen Gewichtsanstieg mehr gezeigt hatten. Sie wurden auf einer Briefwage mit einer Genauigkeit von ± 1% gewogen. Vor Beginn des Hauptversuchs ließen wir in dreiwöchentlichem Abstand jede Ratte zweimal 4 Tage hungern und bei obiger Kost wieder auf ihr voriges Gewicht kommen. Alle Tiere, die dies nicht tadellos vertrugen oder ihr altes Gewicht nicht mehr erreichten, wurden für die eigentliche Insulinmastkur nicht verwendet. Die sich an die 4tägige Hungerperiode anschließende Mastzeit, während der Insulin gespritzt wurde, dauerte 10 Tage. Die Ratten wurden in dieser Zeit anfangs täglich, in den letzten 6 Tagen alle 2 Tage gewogen. In den gleichen Abständen wurde die aufgenommene Futtermenge bestimmt: das Brot wurde den Ratten zugewogen und nach 24 Stunden die im Käfig noch vorhandene Menge zurückgewogen. Aus der Differenz ergab sich der Nahrungsverbrauch der Tiere. Wir sind uns dabei wohl bewußt, daß beim Benagen des Brotes ein Teil davon durch den Käfig hindurch auf die Unterlage fällt, dort nicht mehr vom Kot zu trennen ist und somit verloren geht. Diese Menge dürfte bei allen Tieren annähernd gleich sein und kann deshalb in unseren vergleichenden Versuchen unberücksichtigt bleiben. Die Ratten wurden abends und morgens, auch Sonntags, mit Insulin gespritzt. Die Kontrolltiere erhielten das gleiche Volumen physiologischer Kochsalzlösung subcutan injiziert. Verwendet wurde Insulin Degewop in einer Konzentration von 40 E/ccm. (Für die kostenfreie Überlassung von Versuchsmengen möchte ich der Firma an dieser Stelle danken.) Wir führten die Versuche im Sommer 1941 an insgesamt 40 Ratten durch, davon dienten 16 Tiere als Kontrollen. Am Schluß der Mastkur wurden 8 Kontrolltiere und 8 Tiere, die mit Insulin behandelt worden waren, durch Leuchtgas getötet und zur Bestimmung des Fett- und Wassergehaltes nach den üblichen physiologisch-chemischen Methoden, die leicht abgewandelt wurden, wie folgt verarbeitet (17):

Nach eingetretenem Tod wurde sofort der gesamte Magen-Darmkanal unter sorgfältiger Zurücklassung jedes Fettgewebes entfernt, um zufällige Schwankungen des Fettgehaltes der Ratten, bedingt durch die gerade gefressenen Futtermengen, auszuschalten. (Eine Reinigung des Darmes mit Wasser verbot die nachfolgende Wasserbestimmung in den Rattenkörpern.) Die Veränderung des Fett- und Wassergehalts durch die Entfernung des mengenmäßig bedeutungslosen Magen-Darm-Schlauches fiel kaum ins Gewicht. Der Fehler war um so eher zu vernachlässigen, da die Kontrolltiere gleich behandelt wurden. Außer der Entfernung des Intestinaltraktes wurde noch die Blase durch Punktion entleert. Danach wurden die Ratten 16 Stunden lang im Eisschrank gefroren und anschließend in einer Fleischmaschine zu einem Brei zerkleinert. Dieser Brei wurde gewogen. Die nachfolgenden Frischgewichte beziehen sich stets auf die Wägung dieses Breies, nicht auf das letzte Gewicht des lebenden Tieres. Der so zerkleinerte Tierkörper wurde zweimal mit der dreifachen Menge 98%igen Alkohols 1 Stunde lang im Wasserbad bei 75° erhitzt, der Alkohol danach filtriert, gemessen und davon in 25 ccm der Trockenrückstand bestimmt. Der übrige Alkohol wurde im Vakuum abdestilliert, der Rückstand in einem Benzin-Äthergemisch (1 : 1) aufgenommen. Der Rückstand der Alkoholfiltration, d. h. der zweimal mit Alkohol ausgekochte Tierkörper, wurde im Vakuum über Phosphorpentoxyd bis zur Gewichtskonstanz getrocknet, dann gewogen und schließlich 44 Stunden lang mit obigem Benzin-Äthergemisch im Soxlethapparat extrahiert. Die beiden so gewonnenen Benzin-Äther-Extrakte wurden vereinigt, im Trockenschrank das Benzin-Äthergemisch abgedampft und so die in ihm gelösten Lipide gewonnen und gewogen. Die Berechnung des Wassergehalts ergab sich nach folgender Formel:

$$W = F - \left(T + \frac{M \cdot R}{25}\right).$$

Es bedeutet: W = Wassermenge in g,
F = Frischgewicht in g,
T = Trockengewicht des Tierkörpers nach der Trocknung über Phosphorpentoxyd in g,
M = Menge des filtrierten Alkohols in ccm,
R = Rückstand in 25 ccm des filtrierten Alkohols.

Der Wassergehalt wurde demnach aus der Differenz zwischen Frischgewicht und Trockengewicht bestimmt, wobei sich zu letzterem die gesamte mit Alkohol zuvor herausgelöste Trockensubstanz addiert.

Resultate.

Tabelle 1 gibt über das Verhalten des Körpergewichts der während einer Mastperiode täglich zweimal mit 10 E. Insulin gespritzten Ratten im Vergleich zu den mit Kochsalzlösung gespritzten Kontrolltieren Aufschluß. Sie enthält die Gewichte von 8 Ratten vor dem Hunger, nach dem Hunger und nach 10 Tage langer Insulinmastkur sowie die entsprechenden Körpergewichte von 9 Kontrolltieren (Ergebnisse unserer 3. Versuchsserie).

Tabelle 1.
Körpergewichte erwachsener Ratten während der Insulinmastkur.

Körpergewichte der mit Insulin gespritzten Tiere in g				Körpergewichte der mit physiologischer Kochsalzlösung gespritzten Kontrolltiere in g			
Nr.	vor dem Hunger	nach dem Hunger	nach 10 Tagen Mast	Nr.	vor dem Hunger	nach dem Hunger	nach 10 Tagen Mast
25	340	285	350	9	320	275	320
41	305	260	320	10	300	255	300
42	320	270	335	13	360	310	355
43	310	255	310	14	395	345	390
45	310	255	320	16	330	285	335
46	405	350	420	18	380	335	390
47	345	285	365	22	275	230	275
48	345	300	355	26	310	265	310
				27	315	265	310

Die mit Insulin behandelten Ratten haben nach 10 Tagen Mast ein Gewicht erreicht, das das vor dem Hunger festgestellte, mit nur einer Ausnahme, um 10—20 g übertrifft, während die Kontrolltiere durchschnittlich dasselbe Gewicht zeigen wie vor dem Hunger. Der Gewichtsansatz der Insulin-Tiere ist also höher als der Gewichtsverlust in den 4 Tagen Hunger, während der Gewichtsanstieg der Kontrollratten in den 10 Tagen Mast gerade den zuvor erlittenen Gewichtsverlust kompensiert. Der Unterschied wird noch deutlicher, wenn wir die Gewichtszunahmen in Gramm und Prozent während der Mast einander gegenüberstellen.

Mit Insulin behandelte Ratten:

Zunahmen in g: 65, 60, 65, 55, 65, 70, 80, 55.

Zunahmen in % des Gewichts nach dem Hunger: 23, 23, 24, 22, 25, 20, 28, 18.

Kontrolltiere (mit Kochsalzlösung gespritzt):
Zunahmen in g: 45, 45, 45, 45, 50, 55, 45, 45, 45.
Zunahmen in % des Gewichts nach dem Hunger: 16, 18, 15, 13, 18, 16, 20, 17, 17.

Diese Zusammenstellung zeigt, daß sowohl die absoluten Gewichtszunahmen in Gramm, wie die relativen Gewichtszunahmen in Prozent — letztere bezogen auf das Anfangsgewicht der Mastkur, das die Tiere nach dem Hunger aufweisen — bei den mit Insulin behandelten Tieren deutlich höher sind als bei den Kontrollratten. Durch Zusammenfassung der drei Versuchsserien mit insgesamt 40 Ratten wurde das gleiche Ergebnis erzielt. Die durchschnittliche Gewichtszunahme in Prozent beträgt:

Bei den 24 mit Insulin behandelten Tieren 23%
Bei den 16 Kontrolltieren 17%

Es besteht also eine Differenz von 6%, d. h. die Ratten, die Insulin bekommen haben, nehmen während einer 10 Tage dauernden Mast durchschnittlich 6% mehr zu als die mit Kochsalzlösung gespritzten Kontrollen. Dieser Unterschied ist nicht zufallsbedingt — etwa dadurch, daß in der einen Gruppe günstiger reagierende Tiere verwendet worden wären —, denn aus der Berechnung des mittleren Fehlers dieser Differenz, er beträgt 1,0, folgt, daß er mehr als $^1/_3$ kleiner als diese ist. Damit ist mit einer mehr als 99%igen Wahrscheinlichkeit erwiesen, daß der Unterschied der Gewichtszunahmen beider Versuchsreihen auf das injizierte Insulin zurückzuführen ist.

Dieser Schluß konnte durch Kreuzversuch noch weiter gesichert werden. Ich unterzog 17 Ratten, von denen 9 bereits einmal mit Insulin gemästet worden waren, 8 gleichzeitig zur Kontrolle mit Kochsalzlösung gespritzt worden waren, ein zweites Mal einer Mastkur. Bei dieser zweiten Kur erhielten die Ratten, die zuvor Insulin bekommen hatten, physiologische Kochsalzlösung, die Tiere, die bei der ersten Kur als Kontrollen gedient hatten, wurden mit Insulin behandelt. Das Ergebnis entsprach den Erwartungen. Die Tiergruppe, die vorher als Kontrollgruppe nur 18% Gewichtszunahme gezeigt hatte, nahm jetzt 24% an Gewicht zu, während die anderen Ratten eine Gewichtszunahme von nur 17% gegenüber der früheren von 23% aufwiesen. Sowohl Insulinmastkuren mit Simultankontrollen, wie solche mit Sukzessivkontrollen haben demnach den fördernden Einfluß des Insulins auf unterernährte Ratten bewiesen.

Zum Vergleich seien auch die durchschnittlichen Gewichtszunahmen bei Verabreichung von täglich 2mal 5 E. Insulin genannt. Diese Dosis steht zwischen der von Nitschke (11), mit täglich insgesamt 3 E., gewählten und meiner im Hauptversuch verwandten Dosis von 2mal 10 E. Insulin pro Tag. Gewichtszunahmen bei 7 Ratten nach 2mal 5 E. Insulin pro Tag:

15, 19, 19, 21, 20, 18 und 20%.
Durchschnittswert: 19%.

Auch diese Werte stehen schon um 2 % über den Gewichtszunahmen der mit Kochsalzlösung gespritzten Tiere, jedoch ist diese Differenz noch nicht so überzeugend wie bei Verwendung von täglich 20 E. Insulin.

Außer dem mittleren Fehler der Differenz der Durchschnitte der Gewichtszunahmen wurden noch die mittleren Fehler dieser arithmetischen Mittel selbst berechnet. Dabei ergab sich für den Wert von 23 %, d. h. die mittlere Gewichtszunahme der mit Insulin behandelten Ratten, eine Streuung von 0,78, für den Wert 17 %, d. h. die mittlere Gewichtszunahme der Kontrolltiere, eine Streuung von 0,63. Obwohl also die Zahl der letzteren um ein Drittel geringer war als die der Insulintiere — 16 gegenüber 24 — ist ihr Streuungswert doch ein geringerer. Die Abweichungen vom Mittelwert der Gesamtbeobachtungen sind demnach bei einer Mastkur mit Insulin häufiger und größer. Die bei der Bestimmung der letalen Dosis Insulin geäußerte Vermutung, die toxische Streuung werde eine Parallele bei der therapeutischen Wirkung zeigen, findet in diesen Zahlen eine Stütze. Sie besagen, daß bei der von uns gewählten Dosis ein Teil der gespritzten Ratten nicht den günstigsten, überhaupt möglichen Gewichtsanstieg zeigte, weil die Insulinmenge entweder zu gering oder zu groß für die betreffenden Tiere war.

Auch die tägliche Messung des Nahrungsverbrauchs ergab zwischen den beiden Tiergruppen einen deutlichen Unterschied zugunsten der mit Insulin behandelten Ratten. Die in den ersten 8 Tagen der Mast aufgenommene Futtermenge (berechnet pro Ratte) betrug:

Bei den mit Insulin gespritzten Ratten ..... 240 g
Bei den Kontrolltieren ..... 200 g

Beide Werte stellen wieder das arithmetische Mittel aus 24 bzw. 16 Einzelwerten dar. Der mittlere Fehler der Differenz von 40 g beträgt 8; auch dieser Unterschied ist also mit einer mehr als 99,9 %igen Wahrscheinlichkeit zugunsten einer Steigerung des Nahrungsbedürfnisses durch Insulin gesichert.

Bei der oben geschilderten Wiederholung des Versuchs, unter Vertauschung der Gruppen, zeigte sich die gleiche Änderung in der Nahrungsaufnahme, wie sie am Körpergewicht beobachtet wurde. Die zuvor mit Insulin, beim zweiten Mal mit Kochsalzlösung gespritzten Ratten nahmen dabei weniger, die andere Tiergruppe mehr Futter zu sich.

Wir haben bei der Feststellung des Futterverbrauchs besonders darauf geachtet, daß stets gleich altes und gleichmäßig getrocknetes Brot für die Ratten verwendet wurde. Es ist deshalb ausgeschlossen, daß die größeren Futtermengen, die die mit Insulin behandelten Tiere zu sich genommen haben, durch einen höheren Wassergehalt vorgetäuscht worden wären.

Anschließend an diese Schilderung über das Verhalten von Körpergewicht und Nahrungsaufnahme gibt die Tabelle 2 die Versuchsprotokolle zweier Ratten wieder, von denen eine mit Insulin, die andere mit Kochsalzlösung gespritzt worden ist (Ausschnitt aus Versuchsserie 1).

Tabelle 2. Versuchsprotokolle während der Insulinmastkur.
1. Ratte Nr. 17 (2mal täglich 10 E. Insulin).

Versuchstag:	1.	2.	3.	5.	7.	9.	11.
Gewicht in g	220	240	260	265	270	270	270
Am betreffenden Versuchstag zugewogene Futtermenge in g	60	50	60	85	75	70	
Nach 24 bzw. 48 Stunden zurückgewogene Futtermenge in g	29	21	12	38	31	24	
Verbrauchte Futtermenge in 24 bzw. 48 Stunden in g	31	29	48	47	44	46	

Körpergewichtszunahme: 50 g/23 %. Gesamtfutterverbrauch: 245 g.

2. Ratte Nr. 5. Kontrolltier (Injektion von Kochsalzlösung).

Versuchstag:	1.	2.	3.	5.	7.	9.	11.
Gewicht in g	235	255	260	280	280	280	280
Am betreffenden Versuchstag zugewogene Futtermenge in g	65	50	60	80	70	65	
Nach 24 bzw. 48 Stunden zurückgewogene Futtermenge in g	29	26	17	38	34	31	
Verbrauchte Futtermenge in 24 bzw. 48 Stunden in g	36	24	43	42	36	34	

Körpergewichtszunahme: 45 g/19 %. Gesamtfutterverbrauch: 215 g.

Die an den Gesamttieren am Ende der Mastkur vorgenommenen Bestimmungen des Fettgehaltes hatten folgende Ergebnisse:

1. Fettgehalt der mit Insulin gespritzten Ratten:

Tier Nr.:	1	2	3	5	6	7	8	25
Frischgewicht in g	290	315	290	284	400	338	320	334
Fettgehalt in g	53	58	44	45	68	58	56	47
„ „ %	18	18	15	16	17	17	18	14

2. Fettgehalt der mit Kochsalzlösung gespritzten Ratten:

Tier Nr.:	9	10	13	14	16	18	26	27
Frischgewicht in g	300	280	313	354	313	347	283	309
Fettgehalt in g	35	22	30	45	35	30	34	31
„ „ %	12	8	10	13	11	9	12	10

Die Ratten der ersten (Insulin-) Gruppe haben einen durchschnittlich höheren Fettgehalt, nämlich 17 %, die Kontrolltiere hingegen nur 11 %. Die Differenz von 6 % spricht für einen fettansatzfördernden Effekt des Insulins bei unserer Mastkur, zumal der höchste Wert der Kontrolltiere

(13 %) unter dem niedrigsten Wert der mit Insulin behandelten Tiere (14 %) bleibt. Ich begnügte mich daher mit der Fettbestimmung bei nur 8 Tieren beider Gruppen.

Die gleichzeitige Bestimmung des Wassergehaltes der Gesamttierkörper ergab ein überraschendes Resultat:

1. Wassergehalt der mit Insulin behandelten Ratten:

Tier Nr.	1	2	3	5	6	7	8	25
Wassergehalt in %	59	59	58	60	58	57	58	61

2. Wassergehalt der Kontrolltiere (Injektion von Kochsalzlösung):

Tier Nr.	9	10	13	14	16	18	26	27
Wassergehalt in %	65	64	65	63	65	65	64	63

Mithin war der durchschnittliche Wassergehalt der mit Insulin gespritzten Tiere 59 %, der der Kontrolltiere 64 %. Daraus folgt, daß Ratten nach einer Insulinmastkur weniger Wasser (im Mittel 5 %) in ihrem Körpergewebe aufweisen als Kontrolltiere, die einer Mast ohne Insulin unterzogen wurden. Da ebenso wie bei den Fettbestimmungen der höchste Wert des Wassergehaltes der mit Insulin behandelten Tiere unter dem niedrigsten der Kontrollratten bleibt, halte ich die Differenz trotz der relativ geringen Zahl der Einzelwerte (von je 8) für bedeutsam und nicht der zufälligen biologischen Streuung unterworfen. — Ich möchte hierzu noch erwähnen, daß die zur chemischen Verarbeitung gebrauchte Apparatur doppelt vorhanden war und daß wir stets im selben Arbeitsgang zwei Tiere untersuchten, von denen eines zuvor Insulin, das andere Kochsalzlösung bekommen hatte. Dieses Vorgehen diente zur weiteren Sicherung völlig gleicher Aufarbeitung beider Gruppen.

Im folgenden sei noch eine Zusammenstellung der Zahlen, die wir bei der Aufarbeitung je einer Ratte aus beiden Gruppen gewonnen haben, wiedergeben:

	Ratte Nr. 1 (Insulin)	Ratte Nr. 9 (Kontrolle)
Frischgewicht in g	290	300
Zum Extrahieren verwendete Alkoholmenge in ccm	2×870	2×900
Nach der Extraktion filtrierte Alkoholmenge in ccm	1733	1848
Trockenrückstand in 25 ccm dieses Alkohols in g	0,172	0,188
Gesamtrückstand in g	11,9	13,9
Tierkörper (Trockengewicht) in g	108	92
Summe von Trockengewicht und Gesamtrückstand in g	120	106
Wassergehalt in g	170	194
„ „ %	59	65
Fettgehalt in g	53	35
„ „ %	18	12

Diskussion.

Vorstehende Ausführungen und Versuchsergebnisse liefern eine umfassende experimentelle Unterlage der in der Klinik gebräuchlichen Insulinmastkur. Es gelang, an Ratten nicht nur die appetitsteigernde und gewichtsansatzfördernde Wirkung, sondern auch die vermehrte Fettanlagerung zu zeigen. Die weniger eindeutigen Ergebnisse der bisherigen Untersucher (8, 9, 10, 11, 12) sind wohl in folgendem begründet:

1. Verwendung ungeeigneter Tierarten. Da die Ernährungs- und Stoffwechselverhältnisse der Ratten mehr dem Menschen ähneln, bei dem ja der günstige Erfolg der Insulinmastkur zuerst beobachtet wurde, dürfte diese Tierart geeigneter sein als Kaninchen. Darauf wiesen schon Mac Kay und Mitarbeiter (12) hin. Außerdem kamen hier nur erwachsene Tiere, die in monatelangen Voruntersuchungen Stillstand der Gewichtszunahmen gezeigt hatten, zur Verwendung. Somit wurde durch diese Auslese biologisch analysierten Tiermaterials eine etwaige Interferenz von Wachstum und Mast, beide unter dem Symptom der Gewichtszunahme erscheinend, vermieden.

2. Verwendung gesunder, normaler Tiere (9. 12). Um dieselben pathologischen Verhältnisse herzustellen, wie sie bei der Anwendung der Insulinmastkur am Menschen bestehen, nahm ich Ratten, die 4 Tage lang gehungert hatten (10) und sich daher im Zustand einer weitgehenden Unterernährung befanden.

3. Unzureichende Dosierung (11, 7). In unseren Versuchen verwendeten wir Dosen, wie sie der geringen Empfindlichkeit der Ratte auf Insulin entsprachen (14).

4. Eine zu geringe Anzahl von Versuchstieren (7. 12). Wegen der großen Streuung des therapeutischen und toxischen Effektes des Insulins an der weißen Ratte (14) wurden die Mastkurversuche an 24 Tieren durchgeführt.

Wichtig ist ferner die Beschaffenheit der während der Mastkur verfütterten Nahrung. Die Kost unserer Ratten war sehr fettreich, sie enthielt etwa 50 % der Kalorien als Fett. Derartig ernährte Tiere speichern wesentlich mehr Fett als Tiere, die vorwiegend Kohlehydrate erhalten (18). Auch hierin wurden die Verhältnisse nachgeahmt, die bei der klinischen Anwendung des Insulins während der Mastkur bestehen. So enthält die von Grafe (19) empfohlene Diät 228 g Fett bei 672 g Gesamtgewicht der täglichen Nahrung.

Der verminderte Wasseransatz der mit Insulin behandelten Ratten steht mit bisher geäußerten Ansichten in Widerspruch. Auch experimentelle Erfahrungen am Kaninchen von Vollmer und Serebrijski (20) und

Kundel (20) sowie klinische Befunde von Meyer, Seckel und Kallner (21) wiesen auf eine erhöhte Wasserbindungsfähigkeit der Gewebe unter Insulineinfluß hin. Dabei fanden letztere beim Säugling Wasserretention, während sich bei Untersuchungen am Erwachsenen oft ein „paradoxer" Effekt zeigte. Es muß offen bleiben, ob dies teilweise entgegengesetzte Ergebnis auf unserer besonderen Methodik beruht — Bestimmung des Gesamtwassergehaltes des Tierkörpers statt indirekter Kontrolle des Wasserhaushaltes — oder unter anderen Verhältnissen — ich denke an Tierart, Nahrungszusammensetzung, Insulindosierung usw. — nicht reproduzierbar ist, oder ob unsere Resultate Allgemeingültigkeit erheischen. Bei Annahme einer verstärkten extrarenalen Wasserabgabe würde der Widerspruch zwischen obigen Befunden und den unseren teilweise schwinden.

Jedenfalls befürworten unsere Resultate die Anwendung der Insulinmastkur auch in den Fällen, wo bisher wegen der befürchteten Wasseranlagerung Bedenken bestanden, z. B. bei exsudativ verlaufenden Phthisen (22).

Die günstigen Erfolge von MacKay und Mitarbeitern (12) mit Protamin-Zink-Insulin auch bei einfacherer Versuchsanordnung beruhen darauf, daß Depot-Insulin nicht stoßweise, sondern allmählich resorbiert wird und zur Wirkung gelangt und damit die natürlichen Sekretionsverhältnisse bei Hyperinsulinismus nachahmt. Dieser prinzipielle Vorzug einer kontinuierlichen Applikation ist von Straub (23) auch für das Ovarialhormon nachgewiesen. Ebenso bewirkt die Verwendung von Depotinsulin günstigere Voraussetzungen für einen Erfolg der Insulinmastkur. Unsere Untersuchungen zeigen jedoch, daß diese Wirkung des Depotinsulins keine spezifische ist, sondern dem Insulin allgemein zukommt.

Zwischen unseren Resultaten und den Ergebnissen von Cori (24), die er bei seinen Versuchen über den Insulineinfluß auf die Zuckerverbrennung und den Leberglykogengehalt erhielt, besteht vorerst kein direkter Zusammenhang. Bei Überschuß von Zucker fand Cori Glykogenansatz und gesteigerte Zuckerverbrennung unter Insulineinwirkung. Die von mir gewählte Kost enthielt reichlich Kohlehydrate, so daß auch bei unseren Ratten ein Glykogenansatz wahrscheinlich und mit dem Fettansatz in Parallele zu setzen wäre. Die gesteigerte Kohlehydratverbrennung könnte die Fettspeicherung insofern unterstützen, als durch sie die Notwendigkeit, Fett für den Betriebsstoffwechsel einzusetzen, wegfiele.

Zusammenfassung.

An unterernährten, erwachsenen Albinoratten fördert Insulin in Dosen von 2mal 10 E. am Tag den Gewichtsanstieg, die Nahrungsaufnahme und die Fetteinlagerung. Dabei zeigt sich eine Verminderung des Wassergehaltes der Gewebe.

Literatur.

1) Mariott: J. amer. med. Assoc. **83**, 600 (1924). — 2) Falta: Wien. klin. Wschr. **1925**, Nr. 27. — 3) Lublin, A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **115**, 101 (1926). — 4) Schellong: Klin. Wschr. **1928**, S. 1726. — 5) Baer, P., G. Scoz u. E. Boeri: Boll. Soc. ital. Biol. sper. **10**, 682 (1935) [zit. nach Ber. Physiol. usw. **93**, 80 (1936)]. — 6) Sopp, I. W., u. H. Selbach: Pflügers Arch. **231**, 543 (1933). — 7) Baer, P., G. Scoz u. E. Boeri: Boll. Soc. ital. Biol. sper. **10**, 680 (1935) [zit. nach Ber. Physiol. usw. **92**, 412 (1936)]. — 8) Macleod, J. R., Edw. Magee u. W. Middleton: Biochem. J. **24**, 615 (1930). — 9) Long, M. Luisa, u. Fr. Bischoff: J. Nutrit. (Am.) **2**, 245 (1930). — 10) Goldblatt, M. W. u. R. W. B. Ellis: Biochem. J. **25**, 221 (1931). — 11) Nitschke, E.: Ber. Naturforsch. Ges. Freiburg **37**, 1 (1941). — 12) Mac Kay, J., W. Callaway u. R. H. Barnes: J. Nutrit. (Am.) **20**, 59 (1940). — 13) Onohara, K.: Biochem. Z. **163**, 53 (1925). — 14) Nobel, Edw. u. R. Priesel: Z. exper. Med. **48**, 1 (1925). — 15) Abderhalden, E. u. E. Wertheimer: Pflügers Arch. **203**, 439 (1924). — 16) Cori, K. u. T. Gerty Cori: J. Biol. Chem. (Am.) **72**, 597 (1927). — 17) Hoppe-Seyler-Thierfelder: Physiol. u. pathol. chem. Analyse. Berlin, Springer, 1924. — 18) Reed, Anderson, Yamaguchi u. Mendel: J. Biochem. **87**, 147 (1930). — 19) Assmann usw.: Lehrbuch d. i. Med. Bd. II, S. 121 Berlin, Springer, 1939. — 20) Vollmer, H. u. Serebrijski: Biochem. Z. **158**, 366 (1925); J. Kundel: Diss. Freiburg, 1939. Med. Univ. Poliklinik. — 21) Meyer, W. B., H. Seckel u. A. Kallner: Z. Klin. Med. **105**, 552 (1926). — 22) Zelter, H. G.: Z. Tbk. **49**, Nr. 35 (1927). — 23) Straub, W.: Klin. Wschr. **1940**, S. 911. — 24) Cori, K.: J. Pharmacol. (Am.) **25**, 1 (1925).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Leipzig.
(Direktor: O. Gros.)

Über die Resorption von Calciumsalzen aus dem Magen-Darmkanal und ihre pharmakologische Beeinflussung*.

Von

H. Hofmann.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 1. April 1942.)

Einleitung und Problemstellung.

Die Frage, ob es zu einer Resorption peroral zugeführter Ca-Verbindungen kommt, ist jahrzehntelang umstritten worden. Eine ganze Reihe von Untersuchern konnte bei der experimentellen Prüfung dieser Frage den Nachweis für eine intestinale Ca-Resorption nicht erbringen (1—9). Wir wissen heute, daß diese Versuchsergebnisse in den meisten Fällen wohl darauf zurückzuführen sind, daß entweder die peroral zugeführten Ca-Mengen ungenügend groß waren, oder daß die Ca-Bestimmungen im Blut zu einem Zeitpunkt erfolgten, in dem der Serum-Ca-Spiegel bereits wieder zur Norm abgesunken war. Auf Grund zahlreicher Untersuchungen, die im Tierexperiment an Herbivoren und Carnivoren sowie in Versuchen am Menschen durchgeführt wurden, können wir heute sagen, daß es sicher zu einer Aufnahme von Ca aus dem Magen-Darmkanal kommt. Um einen Überblick über die zahlreichen Arbeiten zu geben, in denen eine intestinale Resorption von Ca-Salzen nachgewiesen wurde, geben wir eine Zusammenstellung der wichtigsten Arbeiten (10—41), wobei wir darauf hinweisen, daß die ältere Literatur bei Hesse (30) zitiert ist.

Im Zuge von Arbeiten, die wir in unserem Institut mit hautschädigenden Stoffen durchführten (42), erwies es sich als notwendig, Aufschluß sowohl über den zeitlichen Verlauf der intestinalen Ca-Resorption als auch über die quantitativen Resorptionsverhältnisse an dem von uns benutzten Tiermaterial zu erhalten. Da hierüber für die von uns in den oben erwähnten Arbeiten ausschließlich benutzte Ratte (Omnivor) bisher keine Untersuchungen vorliegen, sahen wir uns gezwungen, diese Frage experimentell zu entscheiden.

Bei Durchsicht der umfangreichen Literatur ergibt sich die überraschende Tatsache, daß die Untersuchungen fast ausnahmslos eine Prüfung der Ergebnisse auf statistischer Grundlage vermissen lassen. Eine derartige Kritik erscheint uns aber gerade bei der Untersuchung quantitativer

* Herrn Prof. Dr. med. et phil. O. Gros zum 65. Geburtstag gewidmet.

Resorptionsverhältnisse als unerläßlich. Es schien deshalb wünschenswert, die Ergebnisse der Untersuchungen einer statistischen Kritik zu unterziehen.

Wir haben für unsere Studien drei Ca-Salze herangezogen, deren Resorption nach peroraler Darreichung an anderem Versuchsmaterial bereits verschiedentlich untersucht worden ist: Ca-Chlorid, Ca-Lactat und Ca-Gluconat. Die intestinale Resorption von Ca-Chlorid wurde u. a. von Jansen (14), Lasch und Neumeyer (22), Stewart und Haldane (15), Schlossmann (19), Blum und Mitarbeitern (12), Mason (10) und Greenberg und Gunther (35) studiert. Für Ca-Lactat liegen Untersuchungen von Jansen (14), Luckhardt und Goldberg (13), Roe und Kahn (20), Irving (21), Hjort (17), Hoyle (27), Bauer und Ropes (24) u. a. vor und für Ca-Gluconat von Rothlin (31) und Liebermann (33). Alle diese Autoren, die neben dem Menschen die Katze, das Kaninchen und den Hund als Untersuchungsobjekt verwendeten, beschrieben einheitlich eine deutliche Resorption des peroral zugeführten Ca, die in einer Steigerung des Serum-Ca-Spiegels zum Ausdruck kommt, der etwa 2 Stunden nach der Zufuhr sein Maximum erreicht und nach etwa 4 Stunden wieder zur Norm abgesunken ist. Hinsichtlich dem Grad der Resorbierbarkeit der verschiedenen Ca-Verbindungen waren die Ansichten dieser Untersucher geteilt. Während eine Anzahl von ihnen eine Überlegenheit des $CaCl_2$ gegenüber der anderer Ca-Salze feststellen zu können glaubte (Stewart, Jansen u. a.), fanden andere, daß die verschiedenen Salze in annähernd gleicher Weise resorbiert werden (Schlossmann, Rothlin, Greenberg und Gunther u. a.). Es muß allerdings bemerkt werden, daß auch diese Untersuchungen ohne Zuhilfenahme statistischer Auswertungsverfahren durchgeführt wurden, weshalb eine Nachprüfung unter Verwendung einer mathematischen Kritik wünschenswert erschien.

Neben dem Nachweis der intestinalen Resorption des Ca war für uns weiterhin die Untersuchung der Frage von Wichtigkeit, in welcher Weise eine sichere Steigerung der Resorption möglich ist. Diese Frage wurde von uns am gleichen Tiermaterial, ebenfalls unter Verwendung statistischer Auswertungsmethoden studiert. Wir berichten darüber im 2. Teil der vorliegenden Arbeit.

Versuchsanordnung.

Wir verwendeten für unsere Untersuchungen ausschließlich weiße Ratten beiderlei Geschlechts. Es wurden nur Tiere in den Versuch genommen, die sich in einwandfreiem Ernährungs- und Kräftezustand befanden. Das Gewicht der Tiere betrug im Mittel 172 ± 5,2 g. Die Verwendung von Ratten gestattet es nicht, im Verlauf einer Versuchsreihe für die Serum-Ca-Bestimmung mehrmals Blut am selben Tier zu entnehmen, da eine Venenpunktion ohne vorherige Narkose der Tiere nicht regelmäßig zum Erfolg führt. Bei Durchführung einer Narkose erfolgt

aber nach den Befunden von Cloetta und seinen Mitarbeitern (43, 44) eine Veränderung des Serum-Ca-Spiegels. Wir haben aus diesem Grunde jedes Tier nur für eine einzige Ca-Bestimmung benutzt. Die Blutentnahme geschah hierbei durch Eröffnung beider Carotiden nach vorheriger Betäubung der Tiere durch Nackenschlag. Auf diese Weise lassen sich 2 bis 3 ccm Blut gewinnen, die für eine Doppelbestimmung ausreichen. Die in unseren Tabellen und Abbildungen reproduzierten Serum-Ca-Werte stellen ausnahmslos Mittelwerte aus mindestens 4 Einzelversuchen dar, wobei die Genauigkeit der Einzelbestimmungen durch die Methode der Doppelbestimmung laufend kontrolliert wurde. Wir haben darauf geachtet, daß das in den einzelnen Versuchsgruppen zur Verwendung gelangende Tiermaterial möglichst homogen war. Es wurden dazu in den einzelnen Versuchsgruppen Tiere möglichst gleichen Alters und gleichen Gewichts zusammengestellt. Bei der Fütterung der Tiere richteten wir besonderes Augenmerk darauf, daß das verwendete Futter stets das gleiche blieb. Die Gewichtskurve der Tiere wurde laufend kontrolliert.

Die Zufuhr der Ca-Salze erfolgte peroral mit der Schlundsonde, nachdem 12 Stunden vorher den Tieren das Futter entzogen worden war. Die verwendeten Ca-Verbindungen wurden fein pulverisiert in 5,0 ccm Wasser suspendiert. In vergleichenden Versuchsreihen wurden stets äquivalente Mengen $Ca^{\cdot\cdot}$ zugeführt. Die Ca-Bestimmungen erfolgten nach der Methode de Waards (45) durch direkte Fällung im Nativserum. Die Methode hat sich uns wie bereits zahlreichen anderen Untersuchern gut bewährt. Wir haben bei den Bestimmungen besonders auf die Vermeidung der von Hecht (46) und Blühdorn und Genck (47) eingehend diskutierten Fehlermöglichkeiten geachtet. Erwähnenswert ist, daß nach den Erfahrungen, die Köhler (48) in unserem Institut machte, bei dem Lösen des Ca-Oxalatniederschlages auf einen genügenden Säureüberschuß geachtet werden muß, um bei der Titration einen scharfen Farbumschlag zu erzielen. Die Fehlergrenze der Methode belief sich im ungünstigsten Fall auf $\pm$ 4 %. Die Werte der Doppelbestimmung zeigten stets gute Übereinstimmung.

Die statistische Auswertung der Versuchsergebnisse erfolgte nach der sogenannten Studentenregel [Students test, Literatur bei Fisher (49)]. Für jede Versuchsreihe wurde aus den in Einzelversuchen ermittelten Serum-Ca-Werten das Mittel $\left(M = \frac{\sum x}{n}\right)$ und der mittlere Fehler $\left(m = \sqrt{\frac{s^2}{n}}\right)$ berechnet, wobei x der Wert der Einzelbestimmung, n die Anzahl der Versuche, die empirische oder experimentelle Streuung durch $s = \sqrt{\frac{\sum (x - M)^2}{n - 1}}$ dargestellt wird [siehe auch Burn (50)]. Bei einem signifikanten Unterschied zweier zu vergleichender Meßreihen muß die

Differenz der Mittel größer sein als km_G, wobei m_G der sogenannte gemeinsame Fehler durch den Ausdruck $m_G = \sqrt{m_1^2 + m_1^2}$ (m_1 und m_2 die mittleren Fehler der beiden zu vergleichenden Meßreihen) dargestellt wird. Der Faktor k ist der Anzahl der Einzelversuche entsprechend veränderlich und wird einer Tabelle bei Fisher bzw. Burn entnommen, er beträgt unter Zugrundelegung einer 99 %igen Wahrscheinlichkeit bei je 4 Einzelversuchen 2,9. Wir haben ihn entsprechend der „Studentenregel" einheitlich in unseren Versuchen mit 3,0 angenommen.

Versuchsergebnisse.

1. Unter Einbeziehung der in unserem Institut von Kelbling (51) und Wirth (52) durchgeführten Bestimmungen haben wir den Serum-Ca-Spiegel der unbehandelten Ratte an einem Material von 39 Tieren mit $11{,}7 \pm 0{,}3$ mg% bestimmt. Dieses Ergebnis entspricht etwa dem von Kramer und Howland (53) am gleichen Tiermaterial gefundenen Wert.

Erwähnenswert ist die Tatsache, daß wir keinen Unterschied zwischen den Serum-Ca-Werten männlicher und weiblicher Tiere feststellen konnten. Das an 7 männlichen Tieren bestimmte Mittel betrug $11{,}5 \pm 0{,}3$ mg%, das an der gleichen Zahl weiblicher Tiere $11{,}7 \pm 0{,}5$ mg%. Die Differenz der Mittel ist nicht signifikant. Auffällig ist, daß der mittlere Fehler bei den weiblichen Tieren deutlich größer als bei den männlichen ist (gravide Tiere wurden nicht in den Versuch genommen).

Wir haben weiterhin in Vorversuchen untersucht, ob durch psychische Erregungen eine Veränderung des Serum-Ca-Spiegels hervorgerufen wird. Nach Untersuchungen von Glaser (54) wird der Serum-Ca-Wert durch psychische Erregung erhöht, durch sedative Beeinflussung (Hypnose) gesenkt (Mensch). Zur Untersuchung dieser Frage wurden eine Reihe von Tieren vor der Blutentnahme (Tötung) durch Kneifen mit der Faßzange in stärkere psychische Erregung versetzt. Sechs derart vorbehandelte Tiere wiesen einen Serum-Ca-Spiegel von $11{,}6 \pm 0{,}5$ mg% auf. Psychische Erregung, wie sie sich bei der Vorbehandlung der Tiere (Schlundsondenfütterung) nicht vermeiden läßt, verändert demnach den Serum-Ca-Spiegel der Ratte nicht signifikant.

Weiter wurde geprüft, ob durch Flüssigkeitsresorption aus dem Darm Verschiebungen des Serum-Ca-Spiegels hervorgerufen werden können. Zu diesem Zweck erhielt eine Gruppe von Tieren peroral 5,0 ccm einer 9 %igen NaCl-Lösung. 60 Min. nach der Zufuhr betrug der Serum-Ca-Spiegel $11{,}9 \pm 0{,}6$ mg%, er war also nicht signifikant verändert.

Endlich war in Vorversuchen zu untersuchen, welchen Einfluß ein Nahrungsentzug auf den Serum-Ca-Spiegel hat. Es wurde hierzu den Tieren über einen Zeitraum von insgesamt 60 Stunden nur Wasser ange-

boten und der Serum-Ca-Spiegel in zeitlich verschiedenen Abständen bestimmt. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Abb. 1 zur Darstellung gebracht worden.

Wir sehen, daß der Serum-Ca-Spiegel im Verlauf der ersten 24 Stunden der Hungerperiode praktisch nicht verändert wird. Dieser Befund steht im Einklang mit den von Greenberg und Gunther (35) an Mensch und Hund gefundenen Verhältnissen. Interessant war bei unseren Versuchen die Beob-

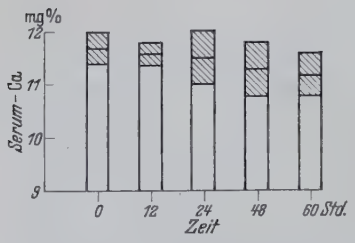


Abb. 1. Serum-Ca-Spiegel der Ratte nach Nahrungsentzug. (Mittel und mittlerer Fehler.)

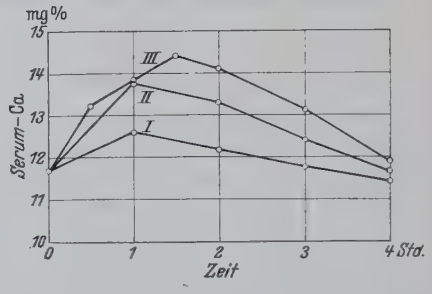


Abb. 2. Serum-Ca-Spiegel der Ratte nach peroraler Gabe verschiedener $Ca\text{-}Cl_2$-Mengen. (Kurve I = 7,5 mg $Ca^{\cdot\cdot}$/100 g; Kurve II = 15 mg $Ca^{\cdot\cdot}$/100 g; Kurve III = 25 mg $Ca^{\cdot\cdot}$/100 g.)

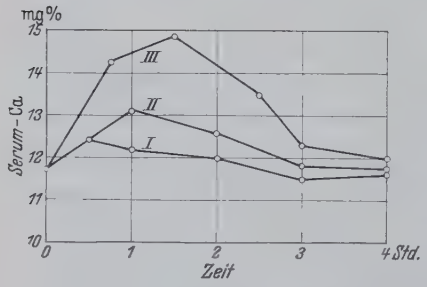


Abb. 3. Serum-Ca-Spiegel der Ratte nach peroraler Zufuhr verschiedener Mengen von Ca-Laktat. (Dosierung wie bei Abb. 2.)

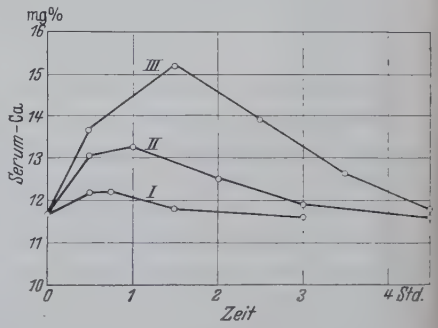


Abb. 4. Serum-Ca-Spiegel der Ratte nach peroraler Zufuhr verschiedener Gaben von Ca-Gluconat. (Dosierung wie bei Abb. 2.)

achtung, daß der mittlere Fehler nach 12stündigem Fasten deutlich vermindert ist. Es ist anzunehmen, daß diese Verkleinerung des mittleren Fehlers durch das Ausbleiben der Nahrungszufuhr hervorgerufen wird, die am Normaltier je nach Art und Menge des unmittelbar vor dem Versuch aufgenommenen Futters zu Schwankungen der Serum-Ca-Werte führt. Im weiteren Verlauf der Fastenperiode zeigt der Serum-Ca-Spiegel eine geringe Tendenz zum Absinken, gleichzeitig wird der mittlere Fehler wieder vergrößert. Dieser Befund steht im Einklang mit Beobachtungen an

anderen Laboratoriumstieren, an denen nach Hungern ein Absinken der Serum-Ca-Werte beobachtet wurde (55—62). Auf Grund dieser Ergebnisse haben wir unseren Tieren 12 Stunden vor Versuchsbeginn das Futter entzogen, um auf diese Weise eine maximale Konstanz des Serum-Ca zu gewährleisten.

Zur Untersuchung der intestinalen Ca-Resorption wurden den Tieren mit der Schlundsonde äquivalente Mengen von $CaCl_2$, Ca-Lactat und Ca-Gluconat zugeführt. Wir untersuchten jeweils drei verschiedene Ca-Dosierungen (7,5 mg $Ca^{\cdot\cdot}$/100 g, 15 mg $Ca^{\cdot\cdot}$/100 g und 25 mg $Ca^{\cdot\cdot}$/100 g).

Die Ergebnisse der zu verschiedenen Zeitpunkten vorgenommenen Serum-Ca-Bestimmungen sind in den Abb. 2—4 zur Darstellung gebracht worden.

Wir ersehen aus den Abbildungen, daß alle 3 Ca-Verbindungen nach peroraler Gabe zu einer Erhöhung des Blut-Ca-Spiegels führen. Das Maximum der Steigerung wurde 60—90 Min. nach der Zufuhr beobachtet. Es wird nach höheren Gaben zeitlich etwas später als nach niederen erreicht. Höhere Ca-Dosen führen zu einer stärkeren Steigerung als niedere. Spätestens 4 Stunden nach der Ca-Gabe liegen die Serum-Ca-Werte wieder im Bereiche der Streuung der Normalwerte. Der mittlere Fehler lag bei diesen Bestimmungen zwischen 0,2 und 0,6 mg%.

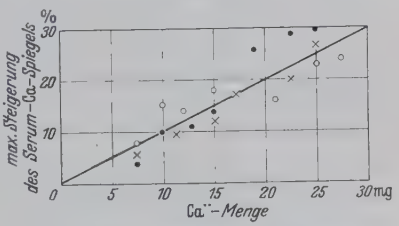


Abb. 5. Abhängigkeit der Steigerung des Serum-Ca-Spiegels der Ratte von der peroral zugeführten $Ca^{\cdot\cdot}$-Menge. (o = $CaCl_2$; × = Ca-Laktat; ● = Ca-Gluconat.)

Die statistische Auswertung dieser Versuchsresultate ergab, daß bei allen drei Ca-Salzen die Zufuhr von 7,5 mg $Ca^{\cdot\cdot}$/100 g zu einer statistisch nicht gesicherten Erhöhung der Serum-Ca-Werte führt. Nach 15 und 25 mg 100 g kommt es im Verlauf der ersten beiden Versuchsstunden zu einer signifikanten Steigerung der Blutkalkwerte. 180 Min. nach der Ca-Gabe liegt der gefundene Wert wieder im Bereiche der Streuung des Normalwertes. Lediglich bei Ca-Lactat erweist sich die beobachtete Steigerung des Serum-Ca-Spiegels auch nach der Zufuhr von 15 mg $Ca^{\cdot\cdot}$/100 g innerhalb der ersten beiden Stunden als nicht signifikant. Nach 25 mg 100 g ist die Steigerung bis zu 90 Min. statistisch reell, sie ist aber nach 150 Min. statistisch nur als „wahrscheinlich reell" zu bezeichnen ($M_1 - M_2 < 2 \cdot m_{(d)}$).

Untersuchen wir, in welcher Weise die maximale Steigerung des Blut-Ca-Spiegels von der peroral verabreichten Ca-Menge abhängig ist, indem wir die in den einzelnen Versuchsreihen gefundene maximale Erhöhung des Serum-Ca (ausgedrückt in % des Normalwertes) als Funktion der zugeführten Ca-Menge graphisch darstellen (Abb. 5), so ergibt sich die interessante Tatsache, daß zwischen verabreichter und resorbierter Ca-

Menge bei allen drei Ca-Verbindungen ein proportionales Verhalten besteht. (In der graphischen Darstellung in der Abb. 5 wurden neben den Werten der Abb. 2—4 noch verschiedene Serum-Ca-Bestimmungen eingetragen, die in anderen Versuchsreihen gewonnen wurden.)

In niederem Dosierungsbereich scheint die Resorbierbarkeit des $CaCl_2$ der der anderen Salze überlegen zu sein, in höherem die des Ca-Gluconats. Bei statistischer Auswertung erweisen sich jedoch die dabei nachweisbaren Unterschiede als nicht signifikant. Auf Grund der vorliegenden Versuchsergebnisse können wir herausstellen, daß $CaCl_2$, Ca-Lactat und Ca-Gluconat in annähernd gleichem Maße aus dem Darm der Ratte zur Resorption gelangen und zu einer statistisch gesicherten Steigerung des Serum-Ca-Spiegels führen. Zwischen verabreichter und resorbierter Menge besteht hierbei ein proportionales Verhalten. Die Ergebnisse unserer an der Ratte durchgeführten Untersuchungen stehen in guter Übereinstimmung mit den Befunden, die an anderen Untersuchungsobjekten erhoben wurden.

2. Aus methodischen Gründen ergab sich die Notwendigkeit, die Resorption der peroral zugeführten Ca-Salze zu steigern. Für die Erzielung einer derartigen Wirkung kam die gleichzeitige Zufuhr von Saponin bzw. die von Galle oder gallensauren Salzen in Frage.

Wir haben zunächst die Wirkung des Saponins auf die Resorption von Ca im Magen-Darmkanal untersucht. Die Kenntnis der resorptionssteigernden Wirkung des Saponins verdanken wir Kofler und seiner Schule, die nachweisen konnte, daß die Aufnahme peroral zugeführter herzwirksamer Glykoside (63), von Aspirin, Magnesiumsalzen und Curarin (64) durch Saponin deutlich gesteigert wird. Eine derartige Wirkung wurde auch von anderen Autoren für Traubenzucker (65), Hypophysenpräparate (66), Digitalisglykoside (67), Insulin (68) und Ca-Salze (69) nachgewiesen. Die Untersuchungen von Lasch (69), der eine Steigerung der Ca-Resorption aus dem Darm nachweisen konnte, wurden von Crosetti (70) und Berger und Mitarbeitern (71) bestätigt.

Wir führten unsere Versuche mit Sap. pur. alb. Merck (hämolytischer Index 1 : 22500) durch, das in wässeriger Lösung den Ca-Suspensionen zugesetzt wurde. Die Untersuchung erfolgte nur mit Ca-Lactat, für das die statistische Auswertung unserer oben angeführten Resorptionsversuche nach peroraler Zufuhr von 15 mg $Ca^{\cdot\cdot}$/100 g keine statistisch signifikante Steigerung des Serum-Ca-Spiegels ergab.

In einem Vorversuch haben wir zunächst geprüft, ob durch Zufuhr von Saponin (ohne Ca-Gabe) eine Steigerung des Serum-Ca-Spiegels hervorgerufen wird. Nach peroraler Gabe von 0,2, 0,4 und 0,6 g Saponin pro 100 g wurde der Serum-Ca-Wert nicht beeinflußt ($11{,}6 \pm 0{,}5$ mg%; $11{,}7 \pm 0{,}4$ mg%; $11{,}5 \pm 0{,}4$ mg%). Zeichen einer akuten Giftwirkung konnten wir auch nach höheren Gaben (bis zu 0,8 g Saponin/100 g) nicht beobachten. Nach Dosierungen über 0,5 g/100 g beobachteten wir jedoch

mehrfach Spättodesfälle. Die Sektion ergab regelmäßig die Zeichen einer hämorrhagischen Entzündung des Magen-Darmkanals.

In den folgenden Versuchen haben wir das Saponin den zur Suspension der Ca-Salze verwandten 5,0 ccm Wasser zugesetzt. Wir führten Versuche mit 2 Saponindosierungen durch (0,2 und 0,6 g/100 g); die gleichzeitig peroral zugeführte Ca-Menge betrug 15 und 25 mg $Ca^{\cdot\cdot}$/100 g. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Tabelle 1 zusammengestellt worden.

Tabelle 1. Steigerung der intestinalen Ca-Resorption durch Saponin (Ca-Lactat).

Dosis $Ca^{\cdot\cdot}$	Dosis Saponin	Zeit	Serum-Ca-Spiegel				Differenz M_1-M_2	m_G	Bemerkungen
			mit Saponin		ohne Saponin				
mg/100 g	g/100 g	Min.	M	$\pm m$	M	$\pm m$			
15	0,2	30	12,9	0,6	12,4	0,5	0,5	0,78	nicht reell
15	0,2	60	14,2	0,7	13,1	0,5	0,9	0,86	
15	0,2	120	12,7	0,7	12,6	0,6	0,1	0,93	
25	0,2	45	15,6	0,6	14,3	0,4	1,3	0,72	nicht reell
25	0,2	90	15,8	0,7	14,9	0,5	0,9	0,86	
25	0,2	150	15,2	0,6	13,5	0,6	1,7	0,85	wahrscheinlich reell
15	0,6	30	13,1	0,6	12,4	0,5	0,7	0,78	nicht reell
15	0,6	60	14,6	0,7	13,1	0,5	1,5	0,86	
15	0,6	120	12,9	0,6	12,6	0,6	0,3	0,85	
25	0,6	45	16,3	0,6	14,3	0,4	2,0	0,72	wahrscheinlich reell
25	0,6	90	17,3	0,6	14,9	0,5	2,4	0,78	reell
25	0,6	150	15,4	0,7	13,5	0,6	1,9	0,93	wahrscheinlich reell

Wir ersehen aus der Tabelle, daß es in allen Versuchsreihen nach der Zugabe von Saponin zu einer numerischen Steigerung des Ca-Spiegels kommt. Bei statistischer Berechnung ergibt sich allerdings, daß lediglich nach der Zugabe von 0,6 g/100 g Saponin und 25 mg/100 g Ca eine statistisch gesicherte Steigerung der Resorption gegenüber den Versuchen ohne Saponinzusatz beobachtet wurde. Es ist aber in diesem Zusammenhang interessant, daß die Zugabe von 0,2 g Saponin/100 g zu 15 mg $Ca^{\cdot\cdot}$ pro 100 g nach 60 Min. zu einer statistisch gesicherten Erhöhung des Serum-Ca-Spiegels über den Normalwert führt. Bekanntlich sahen wir nach Ca-Lactat (ohne Saponin) bei dieser Dosierung keine signifikante Steigerung des Serum-Ca auftreten. Es ist erklärlich, daß nach höheren Dosierungen von Saponin ebenfalls eine signifikante Steigerung des Serumkalks über den Normalwert erzielt wurde.

Nach Zufuhr von 25 mg $Ca^{\cdot\cdot}$/100 g ist die Resorptionsvermehrung bei beiden Saponindosierungen weiter verstärkt. Statistisch ist jedoch die Steigerung nach 0,2 g Saponin/100 g nicht signifikant. (Im Vergleich zu den Versuchen ohne Saponin.) Erst nach Zugabe von 0,6 g Saponin/100 g läßt sich hier die beobachtete Steigerung des Serum-Ca-Spiegels statistisch sichern (Wert nach 90 Min.). Die Erhöhung des Serum-Ca, die 150 Min.

nach der peroralen Gabe im Versuch ohne Saponin statistisch nicht mehr haltbar war, ist sowohl nach der Zugabe von 0,2 g Saponin/100 g als auch nach 0,6 g Saponin/100 g wahrscheinlich reell ($M_1 - M_2 > 2 \cdot m_G$).

Die durch die Saponinwirkung hervorgerufene Resorptionssteigerung konnte also in unseren Versuchen gut reproduziert werden. Optimal wirkte hierbei die Zugabe von 0,6 g Saponin/100 g zu 25 mg $Ca^{\cdot\cdot}$/100 g. Bei dieser Saponindosierung traten aber bereits die Zeichen einer Reizwirkung auf den Magen-Darmkanal deutlich in Erscheinung. Die Mortalität betrug in diesem Dosierungsbereich etwa 20%, wobei die Tiere erst nach > 24 Stunden zum Exitus kamen. Wir haben aus diesem Grunde die Saponindosis auf 0,4 g/100 g vermindert. Nach einer derartigen Gabe sahen wir im Kontrollversuch keine Reizwirkung mehr auftreten. Es zeigte sich aber, daß bei dieser Dosierung auch nach 25 mg $Ca^{\cdot\cdot}$/100 g die Resorptionssteigerung statistisch nicht gesichert war.

Wir haben nun versucht, eine statistisch signifikante Steigerung der intestinalen Ca-Resorption durch Zugabe von Galle zu erzielen. Die Resorptionsförderung durch Galle wurde von Kolda (72) für Strychnin, Calcium, Natriumsalicylat und Pyramidon, von Langecker (73) für Magnesiumchlorid, Curarin, Strychnin und verschiedene herzwirksame Glykoside beschrieben, während Lieben (74) eine solche Wirkung für Magnesiumsalze (Resorption aus dem Rektum) nachweisen konnte.

Wir verwendeten für unsere Versuche die Gesamtgallensalze, die durch Aussalzen aus Rindergalle gewonnen wurden. Die Lösungen wurden für unsere Versuche nicht neutralisiert.

Die Verwendung von Gallensalzen für die Steigerung der Resorption aus dem Magen-Darmkanal hat den Vorteil, daß selbst höchste Gaben keinerlei toxische Wirkung hervorrufen. Obwohl nach Langecker eine 10%ige Lösung von Gallensalzen am Kaninchenauge eine stärkere Entzündung der Bindehaut und diffuse Cornealtrübung hervorruft, wurde in unseren Versuchen selbst nach peroraler Zufuhr einer 15%igen Lösung keinerlei Reizwirkungen des Magen-Darmkanals beobachtet. Wir haben in Vorversuchen bis zu 1,0 g/100 g Gesamtgallensalze per os zugeführt ohne Zeichen für eine Giftwirkung nachweisen zu können. Die Beobachtung, daß peroral zugeführte Gallensalze nicht toxisch wirken, steht in Einklang mit Befunden von Antié und Goropevŝek (75).

Für die Untersuchung der Resorptionssteigerung peroral zugeführter Ca-Salze ist bei der Verwendung von Galle allerdings zu beachten, daß nach Gillert (76) und Dittrich (77) die Galle erhebliche Mengen von Ca enthält (17,5 mg% bei Rindergalle). [Die ionale Konzentration ist hierbei nach Klincke (78) annähernd die gleiche wie im Serum.] In dem von uns benutzten Dosierungsbereich konnten wir jedoch nach der peroralen Zufuhr der Gesamtgallensalze aus Rindergalle eine signifikante Beeinflussung des Serum-Ca-Spiegels nicht beobachten. Das Mittel des Serum-Ca

nach der peroralen Verabfolgung von 0,5 g/100 g Gallensalzen betrug 11,9 ± 0,4 mg%.

Wir führten unsere weiteren Experimente in Analogie zu den Versuchen mit Saponin wiederum mit Ca-Lactat in den Dosierungen 15 und 25 mg $Ca^{\cdot\cdot}$/100 g durch. Die zur Verwendung gelangenden Gallensalze wurden jeweils in den für die Zufuhr des Ca verwendeten 5 ccm Wasser gelöst. Die Ergebnisse unserer Versuche sind in Tabelle 2 zusammengestellt worden.

Tabelle 2. Steigerung der intestinalen Ca-Resorption durch Gallensalze (Ca-Lactat).

Dosis $Ca^{\cdot\cdot}$	Dosis Gallensalze	Zeit	Serum-Ca-Spiegel				Differenz $M_1 - M_2$	m_G	Bemerkungen
			mit Gallensalzen		ohne Gallensalze				
mg/100 g	g/100 g	Min.	M	$\pm m$	M	$\pm m$			
15	0,04	30	12,9	0,6	12,4	0,5	0,5	0,78	nicht reell
15	0,04	60	13,4	0,6	13,1	0,5	0,3	0,78	
15	0,04	120	12,9	0,5	12,6	0,6	0,3	0,78	
25	0,04	45	15,2	0,6	14,3	0,4	0,9	0,72	nicht reell
25	0,04	90	15,7	0,5	14,9	0,5	0,8	0,7	
25	0,04	150	14,2	0,6	13,5	0,6	0,7	0,85	
15	0,1	30	13,1	0,5	12,3	0,5	0,7	0,7	nicht reell
15	0,1	60	15,2	0,5	13,1	0,5	0,8	0,7	wahrscheinlich reell
15	0,1	120	13,0	0,6	12,6	0,6	0,4	0,85	nicht reell
25	0,1	45	15,9	0,7	14,3	0,4	1,6	0,8	wahrscheinlich reell
25	0,1	90	17,4	0,6	14,9	0,5	2,5	0,78	reell
25	0,1	150	15,7	0,6	13,5	0,6	2,2	0,85	wahrscheinlich reell

In den ersten Versuchsreihen gaben wir zusätzlich 40 mg/100 g Gallensalze zu den Ca-Suspensionen. Wir ersehen aus der Tabelle 2, daß durch eine derartige Zugabe die intestinale Ca-Resorption deutlich gesteigert wird. Allerdings läßt sich hier weder in den Versuchen mit 15 mg $Ca^{\cdot\cdot}$ noch in den mit 25 mg/100 g die beobachtete Resorptionssteigerung statistisch sichern. Zu einer statistisch signifikanten Erhöhung der Ca-Resorption sind offensichtlich bedeutend höhere Zusätze von Gallensalzen erforderlich. Wir erhielten erst nach der Zugabe der 10fach größeren Menge zu 25 mg $Ca^{\cdot\cdot}$/100 g eine statistisch gesicherte Resorptionssteigerung (Wert nach 90 Min.). Allerdings ist es, wie wir oben dargelegt haben, ohne weiteres möglich, die Dosis der Gallensalze auf höchste Werte zu steigern, da eine toxische Wirkung derartiger Gaben nicht zu befürchten ist. Die resorptionssteigernde Wirkung der Gallensalze ist deshalb als besonders günstig zu bezeichnen. Wir haben sie mit Erfolg in zahlreichen Versuchen zur Anwendung gebracht, über die wir vorläufig aus hier nicht näher zu erörternden Umständen noch nicht berichten können.

Besprechung der Ergebnisse.

Unsere Versuche haben ergeben, daß sich die Ratte hinsichtlich der intestinalen Resorption von Ca-Salzen ähnlich verhält wie andere Laboratoriumstiere und der Mensch. Es wurde hiermit zunächst der Beweis erbracht, daß bei den Omnivoren hinsichtlich der Aufnahme von $Ca^{\cdot\cdot}$ aus dem Magen-Darmkanal analoge Verhältnisse wie bei Canivoren und Herbivoren vorherrschen, die bisher von anderen Untersuchern für derartige Versuche benutzt wurden. Vergleichen wir die von uns beobachtete Steigerung des Serum-Ca-Spiegels nach peroraler Ca-Zufuhr, so erscheint diese relativ gering im Vergleich zu Beobachtungen, die von anderen Untersuchern an anderen Laboratoriumstieren und am Menschen beschrieben wurden. Es mag dies zunächst an der von uns verwendeten $Ca^{\cdot\cdot}$-Dosierung liegen, es besteht jedoch auch die Möglichkeit, daß die Resorptionsverhältnisse im Rattendarm etwas ungünstiger als bei anderen Untersuchungsobjekten sind.

Weiterhin zeigten unsere Versuche, daß die Verwendung einer mathematisch-statistischen Kritik geeignet ist, die Resultate derartiger Resorptionsversuche in wertvoller Weise zu ergänzen. So erscheint es zunächst sehr instruktiv, die Ergebnisse unserer Versuchsreihen mit der niedrigsten Ca-Dosierung (7,5 mg $Ca^{\cdot\cdot}$/100 g) näher zu betrachten. Obwohl hier sämtliche Serum-Ca-Werte im Bereiche der ersten 90 Min. nach der Ca-Zufuhr eine numerische Erhöhung vom Normalwert ausweisen, ergab die statistische Auswertung, daß alle diese Steigerungen nicht signifikant sind, d. h. daß sie innerhalb der nach mathematischen Gesichtspunkten möglichen Streuung des Normalwertes liegen. Ähnliche Verhältnisse finden wir bei der Betrachtung der Ergebnisse der Versuchsreihen mit höheren $Ca^{\cdot\cdot}$-Dosierungen. Hier sehen wir eine ganze Reihe von Werten, die statistisch nicht haltbar sind, obwohl sie zunächst als „sichere" Steigerungen imponieren. Dies gilt besonders für unsere Versuche mit Ca-Lactat. Man ersieht hieraus, wie wertvoll eine statistische Kritik derartiger Versuchsreihen ist.

Unsere Experimente, die eine pharmakologische Beeinflussung der intestinalen Ca-Resorption im Sinne einer Resorptionssteigerung anstrebten, ergaben ebenfalls ein besonders interessantes Ergebnis durch die Heranziehung statistischer Auswertungsmethoden. Die resorptionssteigernde Wirkung war bisher sowohl von Saponin als auch von den Gallensalzen bekannt. Die mathematische Beurteilung unserer Versuchsergebnisse zeigte, daß eine signifikante Steigerung der intestinalen Ca-Resorption nur durch relativ hohe Gaben der beiden Pharmaka hervorgerufen wird. Bei Saponin liegen diese Dosierungen bereits im Bereiche toxischer Gaben, weshalb eine Verwendung von Saponin (an der Ratte) nicht angebracht erscheint. Wie weit dieses Verhalten auch für andere Laboratoriumstiere und für den Menschen von Bedeutung ist, müssen erst weitere Versuche zeigen. Es erscheint jedoch wichtig, darauf hinzuweisen,

daß wir in der Galle ein Mittel haben, das eine statistisch sichere Resorptionssteigerung hervorruft, ohne dabei selbst zu toxischen Wirkungen zu führen. Die Verwendung von Galle zur Erzielung einer Resorptionssteigerung ist deshalb in besonderem Maße angezeigt.

Zusammenfassung.

1. Der normale Serum-Ca-Spiegel der Ratte beträgt 11,7 ± 0,3 mg%. Er wird durch psychische Erregung nicht signifikant beeinflußt. Zwischen dem Serum-Ca-Spiegel männlicher und weiblicher Tiere besteht kein statistisch haltbarer Unterschied.

2. $CaCl_2$, Ca-Lactat und Ca-Gluconat werden nach peroraler Zufuhr resorbiert und führen zu einer Steigerung des Serum-Ca-Spiegels. Das Maximum der Steigerung wird 60—90 Min. nach der Zufuhr beobachtet. 4 Std. nach der Ca-Gabe liegen die Serum-Ca-Werte wieder im Bereiche der Streuung des Normalwertes.

3. Zwischen verabreichter und resorbierter $Ca^{\cdot\cdot}$-Menge besteht ein proportionales Verhalten.

4. Die intestinale Ca-Resorption kann durch Zugabe von Saponin wie auch von Gallensalzen gesteigert werden. Für eine statistisch gesicherte Steigerung der Resorption sind jedoch Saponindosen erforderlich, die bereits im Bereiche toxischer Gaben liegen. Die für eine statistisch signifikante Resorptionserhöhung erforderlichen Mengen von Gallensalzen rufen keine toxischen Erscheinungen hervor.

Literatur.

1) Halverson, Mohler u. Bergeim: J. biol. Chem. (Am.) **32**, 171 (1917). — 2) Meigs, Blatherwick u. Carey, Ebenda **37**, 1, 1919. — 3) Denis u. Minot: Ebenda **41**, 357 (1920). — 4) Clark: Ebenda **43**, 89 (1920). — 5) Handowsky: Jber. Kinderhk. **43**, 89 (1911). — 6) Jakobowitz: Ebenda **92**, 256 (1920). — 7) Jansen: Dtsch. Arch. klin. Med. **145**, 209 (1924). — 8) Salvesen, Hastings u. Mc Intosh: J. biol. Chem. (Am.) **60**, 327 (1924). — 9) Denis u. Corley: Ebenda **66**, 609 (1925). — 10) Mason: Ebenda **47**, 3 (1921). — 11) Richter-Quittner: Biochem. Z. **114**, 58 (1921). — 12) Blum, Aubel u. Hausknecht: C. r. Soc. Biol. **85**, 1159 (1921). — 13) Luckhardt u. Goldberg: J. amer. med. Assoc. **80**, 79 (1923). — 14) Jansen: Klin. Wschr. **1924**, S. 715. — 15) Stewart u. Haldane: Biochem. J. (Brit.) **18**, 855, 1924. — 16) Hickmans: Ebenda **18**, 925 (1924). — 17) Hjort: J. biol. Chem. (Am.) **65**, 783 (1925). — 18) Laws u. Cowie: Amer. J. Dis. Childr. **13**, 67 (1917). — 19) Schlossmann: Klin. Wschr. **1925**, S. 1262. — 20) Kahn u. Roe: J. amer. med. Assoc. **86**, 1761 (1926); **88**, 980 (1927). — 21) Irving: Biol. chem. **68**, 513 (1926). — 22) Lasch u. Neumayer: Biochem. Z. **174**, 333 (1926). — 23) Astanin: Ebenda **168**, 231 (1926). — 24) Bauer u. Ropes: J. amer. med. Assoc. **87**, 1902 (1926). — 25) Ipponsugi: Mitt. path. Inst. Univ. Sendai **3**, 216 (1926), zit. nach Rothlin. — 26) Krane: Pflügers Arch. **217**, 25 (1927). — 27) Hoyle: J. Pharmacol. (Am.) **32**, 309 (1928). — 28) Stewart u. Percival: Physiol. Rev. (Am.) **8**, 283 (1928). — 29) Belida u. Wladimirowa: Z. exper. Med. **63**, 14 (1928). — 30) Hesse: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **147**, 173 (1930). 31) Rothlin: Z. exper. Med. **70**, 634 (1930). — 32) Aptesch: Ebenda **76**, 343 (1931). — 33) Liebermann: J. Pharmacol. (Am.) **42**, 245 (1931). — 34) Vollmer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **168**, 379 (1932). — 35) Greenberg u. Gunther:

Arch. int. Med. (Am.) **50**, 855, 1932. — 36) Riesser u. Salomon: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **175**, 38 (1934). — 37) Hesse u. Brandt: Klin. Wschr. **1935**, S. 1607. — 38) Freeman, Kent u. Joy: J. biol. Chem. (Am.) **112**, 1, (1935). — 39) Archi: Riv. Clin. med. **36**, 452 (1935). — 40) Albers: Med. Welt **1936**, S. 1696. — 41) Schmitt u. Basse: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **184**, 538 (1937). — 42) Hofmann: Unveröffentl. Versuche. 1939. — 43) Cloetta, Thomann u. Brauchli: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **103**, 260 (1924). — 44) Cloetta, Thomann u. Brauchli: Ebenda **111**, 254 (1926). — 45) de Waard: Biochem. Z. **97**, 176, 186, (1919). — 46) Hecht: Ebenda **143**, 342 (1923). — 47) Blühdorn u. Genck: Ebenda **135**, 581 (1923). — 48) Köhler: Diss. Leipzig 1941. — 49) Fisher: Stat. Methods for Research Workers, Edinburg 1937. — 50) Burn: Biochem. Auswertungsmethoden. Berlin 1937. — 51) Kelbling: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**, 567 (1940). — 52) Wirth: Ebenda **195**, 564 (1940). — 53) Kramer u. Howland: Bull. Hopkins hosp. **33**, 313 (1922). — 54) Glaser: Klin. Wschr. **1924**, S. 1492. — 55) Goto: J. biol. Chem. (Am.) **1**, 321 (1922). — 56) Cavins: Ebenda **59**, 237 (1924). — 57) Lennox, O'Connor u. Bellinger: Arch. int. Med. (Am.) **38**, 553 (1926). — 58) Meglitzky: Z. exper. Med. **55**, 13 (1927). — 59) Schazillo u. Konstantinowskaja: Biochem. Z. **201**, 318 (1928). — 60) Morgulis: Amer. J. Physiol. **84**, 350 (1928). — 61) Morgulis u. Bollmann: Ebenda **89**, 213 (1929). — 62) Morgulis u. Perley: Ebenda **89**, 217 (1929). — 63) Kofler u. Kaurek: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **109**, 362 (1925). — 64) Kofler u. Fischer: Ebenda **116**, 35 (1926); **130**, 320 (1928). — 65) Lasch u. Brügel: Ebenda **116**, 7 (1926); Biochem. Z. **172**, 422 (1926). — 66) Petschacher: Wien. Klin. Wschr. **1927**, S. 1201. — 67) Frommel: Arch. internat. Pharmacodynam. **35**, 46 (1929). — 68) Lasch u. Brügel: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **120**, 144 (1927); Wien. klin. Wschr. **1926**, S. 817. — 69) Lasch: Biochem. Z. **169**, 301 (1926). — 70) Crosetti: Minerva med. (It.) **1929**, S. 316. — 71) Berger, Tropper u. Fischer: Klin. Wschr. **1926**, S. 2394. — 72) Kolda: C. r. Soc. Biol. **94**, 216 (1926). — 73) Langecker: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **136**, 257 (1928); **154**, 1 (1930). — 74) Lieben: Ebenda **144**, 61 (1929). — 75) Antié u. Goropevšek: Z. exper. Med. **97**, 177 (1935). — 76) Gillert: Ebenda **43**, 539 (1924). — 77) Dittrich: Ebenda **41**, 355 (1924). — 78) Klincke: Erg. Physiol. usw. **26**, 235 (1928).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Leipzig.
(Direktor: O. Gros.)

Über die Beeinflussung des anaphylaktischen Schocks durch Vitamin C und Nebennierenrindenhormon*.

Von

H. Hofmann.

(Eingegangen am 12. April 1942).

Die Hemmung des anaphylaktischen Schocks (AS) durch prophylaktische Zufuhr von Vitamin C (l-Ascorbinsäure) wurde von Hochwald[1] beschrieben. Bei der Nachprüfung der Befunde bestätigte ein Teil der Untersucher die schockhemmende Wirkung der l-Asc.[2–7], andere sahen unsichere Wirkung[8, 9], während van Nieckerk in Versuchen am Meerschweinchen[10] und Szirnai am Menschen[11] keine Beeinflussung des Schocks beobachten konnten. Es erschien in diesem Zusammenhang von Bedeutung, daß es Diehl gelang, in methodisch einwandfreien Versuchen den Nachweis zu erbringen, daß der AS beim C-hypovitaminotischen Meerschweinchen schwerer verläuft als am normal mit Vitamin C versorgten Tier[12].

Gelegentlich von Versuchen über die pharmakologische Beeinflussung des AS durch Narkotica und Analeptica, über die wir kürzlich berichteten[13], war die Frage zu entscheiden, ob der AS durch l-Asc. beeinflußt wird. Da hierüber an dem von uns benutzten Versuchstier, der Maus, keine experimentellen Befunde vorliegen, haben wir versucht, die Frage zu entscheiden und berichten im folgenden über die Versuchsergebnisse.

Wir führten die Untersuchungen in enger Anlehnung an die von uns früher benutzte Versuchsanordnung durch und verweisen in diesem Zusammenhang bezüglich aller Einzelheiten auf diese Arbeit[13]. Für die Versuche benutzten wir Mäuse im Gewicht von 22 ± 1.2 g, die durch i. p. Injektion von je 0,2 ccm nicht inaktivierten Pferdeserums am 1. und 3. Versuchstag sensibilisiert wurden. Nach einer darauf folgenden Ruhezeit

---

* Herrn Prof. Dr. med. et phil. Oskar Gros zum 65. Geburtstag gewidmet.

[1] Hochwald: Z. exper. Med. **97**, 433 (1935); **98**, 578 (1936); Dtsch. med. Wschr. **1937**, S. 182. — [2] Yokoyama: Kitasato Arch. exper. Med. **17**, 17 (1940) — [3] Giraud u. Giraud: C. r. Soc. Biol. **121**, 1588 (1936). — [4] Yamamoto: Orient. J. Dis. Infants (Jap.) **23**, 11 (1938). — [5] Spitz u. Hochwald: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **182**, 384 (1936). — [6] Hasimoto u. Mitarbeiter: J. Orient. Med. (Mandsch.) **28**, 1 (1938). — [7]) Lemke: Mschr. Kinderhk. **67**, 244 (1936). — [8] Raffel u. Madison: J. infect. Dis. (Am.) **63**, 71 (1938). — [9] Schäfer: Z. Bakteriol. **140**, 260 (1937); Z. Immunit.forsch. **91**, 385, 394 (1937). — [10] van Nieckerk: Act. neerl. Physiol. etc. **7**, 144 (1937). — [11] Szirnai: Arch. Kinderhk. **117**, 56 (1939). — [12] Diehl: Klin. Wschr. **1939**, S. 956. — [13] Hofmann: Naunyn-Schmiedebergs Arch., im Druck.

von 19 Tagen, in der die Gewichtskurve kontrolliert wurde, beobachteten wir eine gleichmäßige und gute Anaphylaxiebereitschaft. Die den Forderungen Haags[14] entsprechend unter klimatisch konstanten Bedingungen an einem Tag mit gleichmäßigen Luftdruckverhältnissen ausgeführte i. v. Serumreinjektion (Schwanzvene) ergab nach der Zufuhr von 0,1 ccm eine Mortalität von 4 von 10 Tieren und nach 0,2 ccm eine solche von 8 von 10. Dem Vorschlag Doerrs folgend haben wir den Schockerfolg zunächst nach Tod bzw. Überleben der Tiere beurteilt[15, 16]. Daneben wurde die Schockintensität bei jedem Tier durch die von Haag[17] angegebenen Schockzahlen protokolliert (0 = kein Schock; 1 = schwacher Schock; 2 = schwerer Schock; 3 = tödlicher Schock). Das aus den einzelnen Schockzahlen errechnete Mittel erscheint in unseren Tabellen. Wir benutzten für unsere Versuche einheitlich 0,2 ccm Serum als Antigendosis. Durch entsprechende Kontrollversuche wurde die Mortalität des Tiermaterials nach Serumreinjektion in jeder Versuchsreihe geprüft. Für die statistische Auswertung unserer Versuchsergebnisse wurde die sogenannte χ^2-Methode verwendet[18]. Über die Einzelheiten dieser Auswertungsmethode unterrichtet unsere frühere Arbeit[13].

Versuchsergebnisse.

Wir haben zunächst die Frage untersucht, ob die l-Asc. an der Maus zu einer Schockhemmung führt. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Tabelle 1 zusammengestellt worden. Die Zufuhr der l-Asc. erfolgte hierbei i. p. 30 Minuten vor der Serumreinjektion*.

Für eine statistisch signifikante Verminderung der Mortalität sind hiernach auffällig hohe l-Asc.-Gaben notwendig. Wurde die für eine sichere Schockhemmung erforderliche Dosis von 25 mg/20 g l-Asc. 90 Min. vor der Reinjektion des Serums zugeführt, so stieg die Mortalität wieder auf 6 von

Tabelle 1. Anaphylaktischer Schock an der aktiv sensibilisierten Maus nach Vorbehandlung mit l-Ascorbinsäure.

Dosis l-Asc. mg/20 g	Schockerfolg: Mortalität absolut	Mortalität relativ %	Schockerfolg: überlebend	Mittlere Schockzahl	χ^2	Bemerkungen
5	6	60	4	2,4	0,95	Statistisch nicht signifikant
10	7	70	3	2,4	0,26	
15	5	50	5	1,9	1,9	
20	4	40	6	1,7	3,7	
25	3	30	7	1,2	5,0	Statistisch signifikant
30	3	30	7	1,2	5,0	

[14] Haag: Klin. Wschr. **1933**, S. 1091. — [15] Doerr: Bethe-Bergmann's Hdb. **13**, 650 (1929). — [16] Doerr u. Russ: Z. Immunit.forsch. **2**, 109 (1909). — [17] Haag: Ebenda **88**, 129 (1936). — [18] Fisher: Statistical Methods for Research Workers. S. 89. Edinburgh 1932.

* Wir verwendeten das Vitamin C der Firma „Merck" (Cebion).

10 Tieren an ($\chi^2 = 0{,}95$). Diese Beobachtungen stehen im Einklang mit den Befunden Hochwalds[1]. Die schockhemmende Wirkung der l-Asc. ist nur nachweisbar, wenn die Zufuhr zeitlich nicht zu lang vor der Serumreinjektion erfolgt.

Gelegentlich einer Versuchsreihe, die wir an einem sehr heißen Sommertag durchführten, machten wir die Beobachtung, daß die Schutzwirkung der l-Asc. versagte. Dieser zufällige Befund konnte experimentell bestätigt werden, indem sich zeigte, daß Tiere, die länger als 16 Stunden im Brutschrank bei 37° gehalten wurden, durch prophylaktische Injektion hoher l-Asc.-Gaben nicht gerettet werden können. Nach einem 6stündigen Aufenthalt bei 37° war die Schutzwirkung von 25 mg/20 g l-Asc. noch gut (3 von 10 Tieren). Sie sank nach 16stündigem Aufenthalt auf 5 von 10 Tieren ab ($\chi^2 = 1{,}9$). Nach 24 Stunden betrug sie 6 von 10 Tieren. Auch durch weitere Erhöhung der Vitamin C-Dosis (bis zu 50 mg 20 g) gelang es uns nicht, eine statistisch sichere Schutzwirkung zu erzielen.

Für eine Deutung dieses Befundes war es naheliegend, zunächst daran zu denken, daß Temperatursteigerungen und damit verbundene Erhöhung des Stoffwechsels zu einem erhöhten Vitamin C-Verbrauch führen (Dobbelstein[19] u. a.). Es war daher zu prüfen, ob durch protrahierte Zufuhr von l-Asc. während des Aufenthalts in erhöhter Außentemperatur wieder eine Schutzwirkung erzielt werden kann. Der in dieser Richtung angestellte Versuch hatte jedoch ein negatives Ergebnis. Von 10 Tieren, die während eines 24stündigen Aufenthaltes im Brutschrank bei 37° insgesamt 3mal 20 mg/20 g l-Asc. im Abstand von 8 Stunden erhielten, starben 6 im AS, trotz weiterer Zufuhr von 25 mg/20 g 30 Minuten unmittelbar vor der Serumreinjektion.

Die Prüfung der Anaphylaxiebereitschaft im Kontrollversuch ergab hierbei die interessante Tatsache, daß die Empfindlichkeit der „Warmtiere" gegenüber dem Antigen in geringem Maße gesteigert ist. Es starben nach i. v. Reinjektion von 0,2 ccm Serum 14 von 15 Tieren, die 24 Stunden bei 37° gehalten worden waren. Diese Mortalitätssteigerung ist statistisch nicht signifikant. Immerhin deuten die Versuche darauf hin, daß die anaphylaktische Reaktion durch längeren Aufenthalt in erhöhter Außentemperatur wahrscheinlich gesteigert wird. Es sei bei dieser Gelegenheit darauf hingewiesen, daß russische Autoren eine Veränderung der Anaphylaxiebereitschaft nach der Einwirkung abnormer Temperaturen beobachteten. Sie beschrieben eine Verminderung der anaphylaktischen Reaktion nach einer Steigerung der Außentemperatur auf 50°[20], eine Steigerung nach Aufenthalt bei 32°[21]. Da in unseren Versuchen die prophylaktische Behandlung der „Warmtiere" mit l-Asc. nur zu einer ungenügenden Schutzwirkung führte, war an das Versagen anderer Schutz-

[19] Dobbelstein: Klin. Wschr. **1939**, S. 610. — [20] Sharovatova u. Andreeva: Bull. Biol. Méd. exper. URSS. **6**, 69 (1938). — [21] Sharovatova: Bull. Biol. Méd. exper. URSS. **7**, 379 (1939).

mechanismen zu denken, die im Organismus den AS zu beeinflussen vermögen.

Es war in diesem Zusammenhang an die Funktion der Nebennierenrinde zu denken. Bekanntlich kommt es nach der Einwirkung hoher Außentemperaturen zur Ausbildung von „Cortinmangelzuständen" (Riml[22]), die beispielsweise beim Menschen zur Auslösung Addisonscher Krisen führen können (Thaddea[23]). Auf die Bedeutung des Nebennierenrindenhormons für die therapeutische Beeinflussung der Hitzeschäden wurde kürzlich von Schlegel[24] hingewiesen. Die Rolle, die die Nebennierenrinde im AS spielt, ist zwar noch keineswegs geklärt, es erscheint aber naheliegend, daß die Entgiftungsfunktion dieses Organs (Verzár[25], Thaddea[23]) auch für den Ablauf des AS von Bedeutung ist.

Wir haben daher unseren „Warmtieren" prophylaktisch Nebennierenrindenhormon zugeführt. Hierfür benutzten wir das Desoxycorticosteron (abgekürzt: Doca), das in Form des Essigsäureesters unter dem Namen „Cortiron" im Handel ist (gelöst in Sesamöl). Die Versuchsanordnung war hierbei folgende: Die Tiere wurden 24 Stunden bei 37° gehalten. Unmittelbar vor dem Einbringen der Tiere in den Brutschrank sowie nach 8 und 18 Stunden wurden i. m. verschiedene (in der Tabelle 2 angeführte) Dosierungen Desoxycorticosteronacetat injiziert. Nach dem Ausbringen der Tiere aus dem Brutschrank erfolgte subcutan die Zufuhr von 25 mg/20 g l-Asc. und 30 Minuten später die Serumreinjektion. Die Ergebnisse der Versuche wurden in Tabelle 2 zusammengestellt.

Tabelle 2. Anaphylaktischer Schock an der aktiv sensibilisierten Maus nach Vorbehandlung mit Desoxycorticosteronacetat und l-Ascorbinsäure.

Dosis Doca. mg/20 g	Dosis l-Asc. mg/20 g	Schockerfolg: Mortalität absolut	Schockerfolg: Mortalität relativ %	Schockerfolg: überlebend	Mittlere Schockzahl	χ^2	Bemerkungen
0,25	25	4	40	6	1,9	3,7	Statistisch wahrscheinlich reell
0,5	25	4	40	6	1,9	3,7	
0,75	25	3	30	7	1,4	5,0	Reell
1,0	25	2	20	8	1,4	7,2	

Danach tritt also nach Vorbehandlung der „Warmtiere" die Schutzwirkung der l-Asc. wieder ein, wenn vor dem Versuch Nebennierenrindenhormon zugeführt wurde. Die Injektion von 0,25 und 0,5 mg/20 g Doca führt hierbei nicht zu einer statistisch ausreichenden Verminderung der Mortalität. Es besteht also eine gewisse Abhängigkeit der Schutzwirkung von der Gabengröße des Nebennierenrindenhormons.

Nach Untersuchungen von Wolfram und Zwemer[26] soll nun dem Nebennierenrindenhormon selbst eine gewisse schockhemmende Wirkung

[22] Riml: Klin. Wschr. **1939**, S. 265. — [23] Thaddea: Die Nebenniereninsuffizienz und ihr Formenkreis. Stuttgart 1941. — [24] Schlegel: Klin. Wschr. **1941**, S. 506. — [25] Verzár: Die Funktion der Nebennierenrinde. Basel 1939. — [26] Wolfram u. Zwemer: J. exper. Med. (Am.) **61**, 9 (1935).

zukommen. Wir untersuchten diese Frage an unserem Tiermaterial. Die Versuche wurden dabei in 2 Gruppen durchgeführt. Einmal untersuchten wir aktiv sensibilisierte Tiere, die bei normaler Zimmertemperatur (18—24°) gehalten worden waren. In der zweiten Gruppe verwendeten wir Tiere, die 24 Stunden bei 37° gehalten wurden. Die Tiere erhielten zunächst nur eine Injektion von Doca 90 Minuten vor der Serumreinjektion. Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle 3 zusammengestellt.

Tabelle 3. Anaphylaktischer Schock an der aktiv sensibilisierten Maus nach Vorbehandlung mit Nebennierenrindenhormon (Doca.).

Dosis Doca. mg/20 g	Schockerfolg: Mortalität absolut	Mortalität relativ %	Schockerfolg: überlebend	Mittlere Schockzahl	χ^2	Bemerkungen
0,25	8	80	2	2,0	—	Tiere bei normaler Temperatur gehalten
0,50	7	70	3	2,0	0,26	
0,75	7	70	3	1,8	0,26	
1,0	7	70	3	1,8	0,26	
0,25	7	70	3	2,2	0,26	Bei 37° gehalten (24 Std.)
0,75	8	80	2	2,0	—	
1,0	7	70	3	1,8	0,26	

Wie die Tabelle ausweist, war hier keine eindeutige Beeinflussung des AS nachweisbar. Lediglich die Schockintensität war gegenüber dem Kontrollversuch (mittl. Schockzahl 2,4) etwas abgeschwächt. Die mehrfache Injektion des Nebennierenrindenhormons in der Anordnung, wie wir sie oben beschrieben haben, führte beim normalen wie auch beim „Warmtier" nach 0,75 und 1,0 mg/20 g zu einer Verminderung der Mortalität auf 6 von 10 Tieren. Diese Beeinflussung genügt jedoch nicht den Anforderungen einer statistischen Kritik. Danach ist für eine sichere Schockhemmung am Warmtier neben der Vorbehandlung mit Nebennierenrindenhormon eine zusätzliche Gabe von l-Asc. erforderlich.

Die Ergebnisse unserer Versuche deuten darauf hin, daß der Nebennierenrinde für die Überwindung des AS eine gewisse Bedeutung zukommt. Bekanntlich glaubt Dicker[27], daß die Wirkung des Vitamin C auf dem Umweg über die Nebennierenrinde verläuft. Wir glauben, daß die Erklärung der Wirkung der l-Asc. auf den AS zunächst nicht mit einem derartigen Wirkungsmodus in Verbindung gebracht zu werden braucht. Die antagonistische Wirkung des Vitamin C auf den AS können wir uns auf Grund der Ergebnisse der Untersuchungen von Ungar und Mitarbeitern[28] zunächst durch eine Verhinderung der Histaminfreisetzung hervorgerufen vorstellen. Ob diese Wirkung beim AS durch eine Blockade des RES erfolgt, für die eine ganze Reihe von Autoren Belege beigebracht haben (Diehl[12] u. a.), wurde bisher nicht entschieden. Die Wirkung des Nebennierenrinden-

[27] Dicker: Schweiz. med. Wschr. **1937**, S. 74. — [28] Ungar, Parrot u. Levillain: C. r. Soc. Biol. **125**, 1015 (1937).

hormons kann zweifellos mit einer derartigen Blockierung zunächst nicht in Einklang gebracht werden. Wir dürfen aber mit Bestimmtheit annehmen, daß der Nebennierenrinde im AS eine Entgiftungsfunktion zukommt, wie sie bei den verschiedensten Formen von Intoxikationen beschrieben wurde. (Wir verweisen in diesem Zusammenhang auf die Zusammenstellungen der Literatur bei Verzár[25] und Thaddea[23].) Durch die Untersuchungen von Dale wissen wir, daß die anaphylaktische Reaktion im Schock durch Freisetzung von Histamin bzw. histaminähnlichen Substanzen hervorgerufen wird[29]. Die günstige Beeinflussung von Verbrennungszuständen, bei denen die Freisetzung von Histamin nach Kisima[30] ebenfalls eine entscheidende Rolle spielt, durch Zufuhr von Nebennierenrindenhormon wurde schon früher von Einhauser und Mitarbeitern[31] beschrieben. Wir dürfen wohl in Analogie dazu annehmen, daß die Entgiftungsfunktion, die dem Nebennierenrindenhormon gegenüber dem Histamin zukommt, für die Antagonisierung des AS von größerer Bedeutung ist. Eine Überbeanspruchung bzw. Schädigung der Nebennierenrinde, wie sie beispielsweise nach der Einwirkung hoher Außentemperaturen erfolgt, muß zwangsläufig zu einer Verminderung der Entgiftungsfunktion dieses Organs und damit zu einer ungünstigen Beeinflussung des AS führen.

Zusammenfassung.

1. Der durch i. v. Reinjektion von Serum an der aktiv sensibilisierten Maus hervorgerufene anaphylaktische Schock wird durch prophylaktische Zufuhr von l-Ascorbinsäure (Vitamin C) gehemmt.

2. Die Empfindlichkeit gegenüber dem Antigen ist größer bei Tieren, die längere Zeit (> 16 Std.) bei erhöhter Außentemperatur (37°) gehalten wurden.

3. An Tieren, die 24 Stunden bei 37° gehalten wurden, bewirkt die prophylaktische Zufuhr von l-Ascorbinsäure keine Abschwächung des anaphylaktischen Schocks.

4. Bei diesen Tieren tritt die antagonistische Wirkung der l-Ascorbinsäure wieder in Erscheinung, wenn diese während ihres Aufenthaltes unter erhöhter Temperatur mit Nebennierenrindenhormon behandelt wurden.

5. Die Zufuhr von Nebennierenrindenhormon bewirkt allein keine signifikante Verminderung der Mortalität im anaphylaktischen Schock.

6. Es wird die Wirkung des Nebennierenrindenhormons auf den anaphylaktischen Schock diskutiert.

Abschließend sprechen wir den Firmen „Merck“ und „Schering“ für die Bereitstellung von Versuchsmengen ihrer Präparate „Cebion“ und „Cortiron“ unseren Dank aus.

---

[29] Dale: Lancet **1**, 1179, 1233, 1285 (1929). — [30] Kisima: Fukuoka Acta med. **31**, 50 (1938). — [31] Wilson, Rowley, Gray u. Einhauser: Klin. Wschr. **1938**, S. 127.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Leipzig.
(Direktor: O. Gros.)

Über die Beeinflussung des Histamingehalts der Haut durch Reizstoffe.

II. Mitteilung*.

Von

Hans T. A. Haas.

(Eingegangen am 12. April 1942.)

Bei der Untersuchung[1] einer größeren Anzahl von Stoffen, die auf Haut und Schleimhäute eine lokale Reizung ausüben, ließ sich zeigen, daß diese beim Aufbringen auf die unverletzte Rattenhaut teilweise eine Zunahme des Histamingehalts der Haut bedingen, während andere sich in bezug auf das Hauthistamin nahezu indifferent verhalten. Diese Versuchsergebnisse wurden allerdings mit einer Methode gewonnen, die gewisse Fehlermöglichkeiten nicht völlig ausschließt. Diese liegen einmal in der gewählten Applikationsart der Hautreizstoffe, die nur durch ein einmaliges Auftropfen mit der Haut in Berührung gebracht wurden. Dadurch ist in den meisten Fällen nur mit einer zeitlich begrenzten Einwirkungsdauer zu rechnen und eine gleichmäßige Wirkstärke über einen längeren Zeitraum nicht immer zu garantieren. Der weitere Unsicherheitsfaktor der früheren Untersuchungsreihen beruht auf der nahezu ausschließlichen Verwendung stark konzentrierter Lösungen der Hautreizmittel. Es wäre aber denkbar, daß die gefundenen Unterschiede im Verhalten des Hauthistamins nur innerhalb dieses Konzentrationsbereichs gelten, und daß sich die Grenzen zwischen den beiden Gruppen bei der Benutzung niedriger Dosierungen verwischen.

Es wurden daher erneut Versuche durchgeführt, bei denen eine weitgehend gleichmäßige Einwirkung über einen begrenzten Zeitraum sichergestellt war und bei denen außerdem für die gewählten Hautreizstoffe ein größerer Konzentrationsbereich untersucht wurde.

Als Hautreizmittel wurden für diese Versuche Senföl und Ameisensäure gewählt. Das Senföl hatte in den früheren Versuchen innerhalb der Histamin-ausschüttenden Hautreizstoffe eine gewisse Sonderstellung gezeigt, da bei ihm eine vermehrte Freisetzung von Histamin nur über einen kurzbegrenzten Zeitraum beobachtet werden konnte. Es fragte sich daher, ob bei der Anwendung verdünnter Lösungen diese Besonderheit bestehen blieb. Ebenso erschien bei der Ameisensäure eine Entscheidung über einen

---

* Herrn Prof. Gros zum 65. Geburtstage gewidmet.

[1] Haas, H. T. A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, 161, 1941.

eventuellen Einfluß verdünnter Lösungen auf den Histamingehalt wichtig. Die Ameisensäure gilt nach den Erfahrungen an der menschlichen Haut in stärkeren Verdünnungen als ein mildes Reizmittel und Rubefaciens. Es könnte daher gerade bei dieser Säure angenommen werden, daß ihr in einer entsprechenden Verdünnung, wo die stark ätzende und dermatolytische Wirkung der konzentrierten Säure fortfällt, eine Freisetzung von Histamin in der Haut zukommt.

Methodik.

Methodisch wurden die gleichen Versuchsbedingungen eingehalten wie bei den früheren Untersuchungsreihen. Die Applikation der Hautreizstoffe erfolgte allerdings nicht mehr durch Aufträufeln auf die Haut, sondern mittels eines dicken gut durchtränkten Filzstückchens von 2 qcm Größe. Der Filz wurde mit Wundklammern nach Herff an der Rückenhaut befestigt. Die Klammern lagen dabei stets außerhalb des mit dem Filz in Berührung stehenden Hautbezirks. Zur Histaminbestimmung wurden nur solche Hautpartien verwandt, die während der ganzen Einwirkungsdauer mit dem Filz unmittelbar in Berührung gestanden hatten.

Die Verdünnung des Senföls erfolgte mit Aceton, die der Ameisensäure mit Aqu. dest. Als Ausgangslösung wurde bei der Ameisensäure eine 58%ige Lösung benutzt.

Versuchsergebnisse.

Infolge der Verwendung des Acetons als Lösungsmittel wurden zunächst einige Vorversuche ausgeführt, bei denen die Wirkung des Acetons auf den Histamingehalt der Haut geprüft wurde. Auch hierbei wurde die Applikation auf die Haut mit Filzstückchen durchgeführt. Nach einer Einwirkung von 10 Minuten fand sich ein Histamingehalt von 22 bzw. 18 γ/g Haut; 30 Minuten nach der Einwirkung des Acetons betrug der Histamingehalt der Haut 21 und 22 γ/g Haut und nach 1stündiger Einwirkungsdauer 19 bzw. 21 γ/g Haut. Damit bestätigten sich erneut die früheren Versuche, nach denen Aceton keinen Einfluß auf das Hauthistamin ausübt.

Die Ergebnisse der Versuche mit Senföl und Ameisensäure sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt. Das Verhalten des Histamingehalts der Haut unter dem Einfluß dieser beiden Hautreizstoffe ergibt sich aus dem Vergleich mit den in früheren Versuchen erhaltenen Werten für den Histamingehalt der normalen und unbehandelten Rattenhaut, der sich aus 14 Einzelversuchen auf einen Mittelwert von $21 \pm 0{,}7$ γ/g Haut errechnen ließ. Die in der Tabelle enthaltenen Normalwerte sind der früheren Arbeit entnommen.

Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, bestätigte sich zunächst das Ergebnis der früheren Untersuchungen, nach denen Senföl durch eine Freisetzung von Histamin in der Haut gekennzeichnet ist, während die Ameisen-

Tabelle 1. Histaminäquivalente in γ/g Haut.

Ohne Vorbehandlung		22 21 18 22 19 22	21 25 24 17 22 26 19 21
Nach Vorbehandlung mit		Einwirkungsdauer	Histamingehalt
Senföl, unverdünnt		5′	36 38 33
		10	28 25
		20	17 13
Senföl, verdünnt	1 : 25	10	37 29 29
		20	36 32
		30	24 26 23
		60	27 23
	1 : 100	10	28 26
		30	36 28
		60	23 26
	1 : 500	10	30 31
		30	29 32
		60	19 22
	1 : 2500	10	17 23 33
		30	26 31 40
		60	29 28
		120	22 18
	1 : 10 000	30	25 24
		60	17 22
		120	21 23
Ameisensäure 58 %		10	25 18 24 28
		30	24 22
		120	11 14
Ameisensäure, verdünnt	1 : 10	10	26 20 24
		30	26 25 23
		120	19 16
	1 : 100	10	26 25
		30	24 22 19
		120	22 16
	1 : 500	10	22 24
		30	21 25
		120	20 23

säure eine vermehrte Ausschüttung von Histamin vermissen läßt. Bei der Ameisensäure gilt dieses Fehlen eines Einflusses auf den Histamingehalt der Haut auch bei der Berücksichtigung einer verschieden langen Einwirkungsdauer und einer verschieden hohen Dosierung. Die Einteilung der Hautreizstoffe in zwei verschiedene Gruppen nach ihrem Verhalten gegenüber dem Hauthistamin erscheint demnach berechtigt. Es bleibt natürlich die Möglichkeit bestehen, daß die zur Zeit üblichen Histaminbestimmungsmethoden eine Erfassung sehr geringer Verschiebungen des Hauthistamins nicht erlauben, und daß daher der unter dem Einfluß der Ameisensäure gleichbleibende Histamingehalt der Haut nur auf der mangelhaften Versuchsanordnung beruht, die bei feinen Veränderungen versagt.

Dieser Einwand besagt aber, selbst wenn er zu Recht besteht, letzten Endes nichts gegen die Feststellung, daß die untersuchten Hautreizstoffe sich hinsichtlich der Mobilisation des Hauthistamins deutlich voneinander unterscheiden, da mit einer verbesserten Versuchsanordnung erst recht die bereits jetzt nachweisbaren Differenzen in Erscheinung treten müßten. Die Tatsache, daß die beiden Hautreizstoffe sich auch hinsichtlich ihrer Wirkung auf Zellkern bzw. Protoplasma verschieden verhalten[2, 3], und zwar wiederum völlig übereinstimmend zu ihrem unterschiedlichen Verhalten gegenüber dem Hauthistamin, bedeutet eine weitere Bestätigung ihres ungleichen Wirkungscharakters.

Bei den Versuchen mit Senföl zeigte sich außerdem, daß die Phase der Histaminvermehrung bei der Anwendung reinen Senföls kurz bemessen ist. Bereits nach 10 Minuten fallen die Histaminwerte der Haut ab und nach 20 Minuten erreichen sie schon unternormale Werte. Bei der Verdünnung des Senföls mit Aceton verlängern sich mit zunehmendem Verdünnungsgrad die Zeiträume, in denen eine Histaminausschüttung zustande kommt, so daß bei einer Verdünnung von 1 : 2500 sogar noch nach einer 1stündigen Einwirkungszeit ein vermehrter Histamingehalt in der Haut vorliegt. Allerdings ist bei dieser Verdünnung der Eintritt der Histaminausschüttung deutlich hinausgezögert, da erst 30 Minuten nach dem Aufbringen auf die Haut die Zunahme des Histamins eintritt. Bei der Verdünnung von 1 : 2500 scheint in bezug auf die Freisetzung von Histamin für das Senföl die obere Wirkungsgrenze zu liegen. Verdünnungen von 1 : 10000 erwiesen sich selbst nach längerer Einwirkungsdauer unwirksam.

Es ist nun interessant, daß nach Heubner[4] beim Senföl die Verdünnung von 1 : 2500 (unter Benutzung von Ringer als Lösungsmittel) etwa die obere Grenze darstellt, die an der menschlichen Haut nach vorangehender leichter Ritzung noch Quaddelbildung hervorruft. Bei der Verwendung von Aceton als Lösungsmittel lag in eigenen Versuchen die obere Grenze der Hautwirksamkeit bei der gleichen Konzentration. Verdünnungen von 1 : 5000 führten nicht mehr regelmäßig zu einer Quaddelbildung. Die Haut wurde dabei ebenso wie in den Heubnerschen Versuchen vor dem Aufträufeln des Senföls kreuzweise leicht geritzt. Für die Ameisensäure lag die Grenzkonzentration, bei der noch Quaddelbildung an der eingeritzten Haut eintritt, bei 1 : 500.

Auch in den Versuchen an der Rattenhaut fanden sich in den meisten Fällen nach der Einwirkung von Senföl und Ameisensäure deutliche Reizerscheinungen mit Rötung, vermehrter Gefäßinjektion und leichter Ödembildung. Das Vorkommen dieser Hautreaktionen bei beiden Hautreizstoffen zeigt, daß aus dem Auftreten von Hyperämie und Rötung nicht ohne weiteres auf das Stattfinden einer Histaminfreisetzung in der Haut ge-

[2] Brock, N., H. Druckrey, u. H. Herken: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 679 (1939). — [3] Haas, H. T. A.: Ebenda **197**, 284 (1941). — [4] Heubner, W.: Ebenda **107**, 129 (1925).

schlossen werden darf. Bei den Senfölversuchen ließ sich außerdem immer wieder feststellen, daß auch die Stärke der auftretenden Hautrötung keineswegs mit dem Umfang in der Verschiebung der Histaminwerte parallel geht. Selbst die nach längeren Einwirkungszeiten eventuell eintretende Abnahme des Histamingehalts steht in ihren Ausmaßen in keiner Beziehung zu dem Grad der beobachteten Hautveränderungen. Sowohl bei den Senfölversuchen als auch nach der Einwirkung der Ameisensäure fanden sich verminderte Histaminwerte und zwar von etwa der gleichen Größenordnung, trotzdem der Umfang der Hautschädigung in den beiden Versuchsreihen ein deutlich unterschiedliches Verhalten aufwies. Bei der Einwirkung unverdünnten Senföls sind die Histaminwerte bereits nach 20 Minuten deutlich unter die Norm abgesunken. Zu diesem Zeitpunkt ist aber sicherlich noch nicht mit einer tiefgreifenden Zerstörung der Haut zu rechnen. Die in der Haut eingetretenen Veränderungen gehen vielmehr, wenn die Senföleinwirkung unterbrochen wird, innerhalb kurzer Zeit in den Normalzustand über. Bei der konzentrierten Ameisensäure kommt eine Erniedrigung des Hauthistamins erst nach einer 2stündigen Einwirkungsdauer zustande. Nach dieser Einwirkungszeit zeigt aber die Rattenhaut bereits schwerste Zerstörungsprozesse mit einer nahezu völligen Auflösung der Oberhaut, so daß eine Reparation dieser Haut ohne Narbenbildung oder bleibenden Defekt nicht erwartet werden kann. Auch nach 30 Minuten langer Einwirkung von konzentrierter Ameisensäure ist die Haut bereits stark geschädigt. Trotzdem entspricht hier der Histamingehalt der Haut sogar völlig der Norm. Es bestehen somit anscheinend auch zwischen der Abnahme des Histamingehalts und dem Ausmaß der vorliegenden Hautschädigung keine meßbaren Beziehungen.

Zusammenfassung.

In Erweiterung früherer Befunde konnte für Senföl und Ameisensäure bei Berücksichtigung verschieden langer Einwirkungszeiten und unter Benutzung unterschiedlicher Dosierungen gezeigt werden, daß zwischen diesen beiden Hautreizstoffen in bezug auf die Beeinflussung des Hauthistamingehalts eindeutige Unterschiede bestehen. Senföl führt bis zu Verdünnungen von etwa 1 : 2500 regelmäßig zu einer vermehrten Freisetzung von Histamin in der Haut. Bei der Ameisensäure ist demgegenüber weder bei der Anwendung in konzentrierter Form noch in verdünnter Lösung ein Einfluß auf den Histamingehalt der Rattenhaut nachzuweisen.

Es bestätigt sich somit auch unter diesen Versuchsbedingungen, daß in bezug auf das Verhalten des Hauthistamins innerhalb der hautreizenden Substanzen 2 Gruppen zu unterscheiden sind, und zwar eine, bei der nach Applikation der Hautreizstoffe eine Zunahme des Hauthistamins eintritt, und eine zweite, bei der eine Beeinflussung des Histamins in der Haut trotz des Auftretens deutlich sichtbarer Reizerscheinungen nicht nachweisbar ist.

Aus der II. Medizinischen Universitätsklinik der Charité in Berlin.
(Direktor: Prof. Dr. G. von Bergmann.)

Die Wirkung des Veritols und anderer Adrenalin-Ephedrinkörper auf den Kohlehydratstoffwechsel.

Von

S. Thaddea, H. Friedrichs und Th. Köhns.

(Eingegangen am 10. April 1942.)

Die Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und pharmakodynamischer Wirkung der cyclischen Seitenkettenamine und -aminosäuren, als deren wichtigster Vertreter das Adrenalin anzusehen ist, sind seit der Aufklärung der Wirkung der sympathomimetischen Stoffe [Barger und Dale (1)] durch zahlreiche experimentelle und klinische Untersuchungen einer weitgehenden Klärung nähergebracht worden, ohne daß es aber bis heute gelungen wäre, völlige Klarheit über die Beziehungen dieser Substanzen zum Adrenalin zu schaffen. Da nach den bisher vorliegenden Arbeiten zahlreiche, dem Adrenalin chemisch nahe verwandte Stoffe in wesentlichen Punkten (z. B. Kreislaufwirkung!) von der physiologischen Adrenalinwirkung abweichen, haben wir uns die Aufgabe gestellt, vergleichende experimentell-klinische Untersuchungen auch am Gesamtkohlehydrathaushalt über die Adrenalinwirkung einerseits und über die Wirkung der für den Arzt wichtigsten Adrenalinverwandten (Veritol, Pervitin, Sympatol) andererseits anzustellen.

Die wenigen Untersuchungen, die bisher über diese Frage vorgenommen wurden, sind zum Teil widerspruchsvoll und haben keine Klärung gebracht. Das Veritol [β (p-Oxyphenyl)-Isopropyl-Methylamin], das chemisch und pharmakologisch mit Hordenin und Tyramin verwandt ist, hat seit den grundlegenden Arbeiten von Rein (25) als peripheres Kreislaufmittel Eingang in die Klinik gefunden. Nach übereinstimmenden Angaben [Baumann (2), Franek (12), Herlitzka (18), Riechert und Schmieder (26), Schneider (30), Zipf (33)] wird durch Veritolgaben der Blutzuckerspiegel nicht verändert, gelegentlich beobachtet man Tendenz zur reaktiven Blutzuckersenkung [Taeger (32)]. Nach Untersuchungen von Riechert und Schmieder (26) kann durch therapeutische Dosen von Corbasil, das nach Schaumann (29) unter den Adrenalin-Ephedrinkörpern qualitativ dem Suprarenin am nächsten steht, eine deutliche Blutzuckersteigerung erzielt werden.

Das Pervitin (optisch aktives, salzsaures l-Phenyl-2-methylaminopropan), das zur Gruppe der Desoxyephedrine gehört und sich chemisch vom Veritol durch Fehlen der phenolischen OH-Gruppe unterscheidet, ist nach Hauschild (17) etwa 8—10mal weniger toxisch als Ephedrin und Veritol, während seine pharmakologische Wirkung stärker ist. Gefährlich ist jedoch die Pervitinsucht, die eine sehr strenge Indikationsstellung des Mittels notwendig macht. Der Blutzuckergehalt bleibt nach Pervitingaben sowohl beim Tier [Riechert und Schmieder (26)] wie beim Menschen [Seifert (31), Friedrichs (15)] unverändert. Suprifen, Ephedrin, Base B des Ikorals und Benzedrin zeigen in therapeutischen

Dosen ebenfalls keinen Einfluß auf den Blutzuckerspiegel [Franke (14), Friedrichs (15), Riechert und Schmieder (26)].

Über die Blutzuckerwirkung des Sympatols, des weinsauren Salzes des p-Methylaminoäthanolphenol, sind die Literaturangaben nicht einheitlich. Baumann (2) und Lasch (20) finden nach Sympatolgaben beim Kaninchen eine deutliche Hyperglykämie, die allerdings Ehrismann (9), Pflug (23) sowie Riechert und Schmieder (26) nicht bestätigen konnten. Eine Reihe weiterer Autoren [Rühl (28), Frank und Kratz (13), Kottlors und Faust (19), Brentano und Pflug (7)] hat beim Menschen nach Sympatolzufuhr keine nennenswerte Veränderung des Blutzuckers gesehen. Ehrismann und Maloff (10) sowie Pflug (23) vermissen nach Sympatol das Auftreten einer Glykosurie, während Lasch (20) eine sehr geringe Harnzuckerausscheidung beobachtet hat. Poczka und Steigerwald (24) sowie Bertram (3) haben bei der Behandlung von komatösen und nichtkomatösen Diabetikern niemals eine schädigende Wirkung des Sympatols auf den Kohlehydratstoffwechsel gesehen. Nach früheren sorgfältigen Untersuchungen aus unserer Klinik [Pflug (23), Brentano und Pflug (7)] führt Sympatol im Tierversuch und beim Menschen — im Gegensatz zum Adrenalin — zu keinem Glykogenzerfall in der Skeletmuskulatur.

Das Adrenalin ist an und für sich das physiologische Analepticum, das bis vor kurzem bei der Bekämpfung des Vasomotorenkollapses und der peripheren Kreislaufschwäche an oberster Stelle stand. Der praktischen Anwendung des Adrenalins in der Therapie stehen aber mancherlei Gründe entgegen. Zunächst ruft die rasche Zerstörung des Adrenalins bereits beim Gesunden subjektiv sehr unangenehme Zustände (Herzklopfen, Schwitzen, Zittern) hervor, die unter Umständen bei Hyperthyreosen sogar zu bedrohlichen Zwischenfällen (Exitus letalis!) führen können. Ferner können bei oraler Zufuhr infolge der örtlichen Gefäßverengerung praktisch keine wirksamen Mengen resorbiert werden, vor allem aber erfolgt eine Zerstörung des per os aufgenommenen Suprarenins durch die Aminoxydasen der Leber. Andererseits wird auch nach parenteraler Zufuhr das Adrenalin durch die Aminoxydasen und Polyphenoloxydasen der Gewebe, vor allem wieder der Leber, zerstört. Ferner ist bekannt, daß das Adrenalin in therapeutischen Dosen ein starkes Stoffwechselgift ist, das zu einem Glykogenzerfall in Muskulatur und Leber führt. Der Glykogenschwund führt zur Ausschwemmung des Glykogens aus der Muskulatur in Form von Milchsäure und damit zur Hyperlactacidämie, während aus der Leber das Glykogen in Form von Zucker (Hyperglykämie und Glykosurie) ausgeschüttet wird. Es kommt unter Adrenalin gleichzeitig zu einer Kreatinurie, welche die Folge einer Mehrbildung von Kreatin im Muskel selbst bei gleichzeitiger Phosphagenabnahme ist, und zu einem Komplex von anderen Stoffwechselstörungen, den Brentano (5) als den „Symptomenkomplex des Glykogenzerfalls in der Skeletmuskulatur" beschrieben hat.

Wenn man diese ungünstigen Nebenwirkungen des Adrenalins auf den Kohlehydratstoffwechsel betrachtet, so ist es durchaus zu verstehen, warum der Arzt und Chemiker bemüht sind, neue ähnlich wirkende, leicht zuführbare und beständige Stoffe zu finden, die eine dem Adrenalin gleiche oder vielleicht sogar noch günstigere Kreislaufwirkung ohne einen schädlichen

Einfluß auf den Kohlehydrathaushalt entfalten. Von diesen Gesichtspunkten aus haben wir im Tierversuch und am Menschen die praktisch wichtige Frage zu beantworten versucht, ob Substanzen, die in ihrer chemischen Konstitution und Kreislaufwirkung dem Suprarenin sehr nahe stehen, es dabei aber an Wirkungsdauer noch erheblich übertreffen, dieselben bzw. noch größere Schäden im Kohlehydratstoffwechsel anrichten als das Adrenalin, oder ob diese unangenehmen Nebenerscheinungen nicht vorhanden bzw. weitgehend herabgemindert sind.

Methodik.

Als Versuchstiere für unsere experimentellen Untersuchungen dienten Hunde, Ratten und Kaninchen. Die Nahrung bestand bei ersteren aus gemischter Kost, bei den Kaninchen aus Rüben, Hafer und Heu. Gewicht und Temperatur wurden fortlaufend kontrolliert.

Für die Glykogenbestimmung wurden die Organe nach dem Pflügerschen Verfahren (22) behandelt und nach dem Hydrolysieren als Zucker nach Hagedorn-Jensen (16) bestimmt. Das Kreatin und Kreatinin wurden kolorimetrisch nach Folin (11) unter Berücksichtigung der von Riesser und Brentano (27) angegebenen Verbesserungen bestimmt. Die Blutmilchsäure wurde nach Laszlo-Dische (21), der Blutzucker nach Hagedorn-Jensen (16) errechnet.

Unsere klinischen Untersuchungen wurden an Gesunden und Zuckerkranken unter Grundumsatzbedingungen vorgenommen. Von den im Handel befindlichen Adrenalin-Ephedrinkörpern benutzten wir das Veritol, Pervitin und Sympatol. Unsere Versuchsanordnung war folgende: Wir stellten zunächst den Blutzucker- bzw. Blutmilchsäurenüchternwert fest und untersuchten dann in kurzen Abständen bis zu $2^1/_2$ Stunden nach der subcutanen Injektion der oben erwähnten Substanzen in Doppelbestimmungen den Blutzucker nach Hagedorn-Jensen und die Blutmilchsäure nach dem Verfahren von Laszlo-Dische. Das Blutmilchsäure- und Blutzuckerverhalten unter dem Einfluß von Veritol, Pervitin und Sympatol wurde stets im Vergleich mit Adrenalin untersucht.

I. Ergebnisse der Untersuchungen am Tier.

1. Einfluß des Veritols und anderer Adrenalin-Ephedrinkörper auf Leber- und Muskelglykogen.

Als Test für unsere Untersuchungen diente uns zunächst das Verhalten des Leber- und Muskelglykogens. Die Versuche wurden an nüchternen, gesunden Ratten ohne Kreatinurie ausgeführt, weil die Anwesenheit von Kreatin im Harn mit Sicherheit auf das Bestehen einer schweren Störung im Kohlehydratstoffwechsel hinweist mit Verminderung des Muskelglykogens [Brentano (4)] und einer Erschwerung des Glykogenbildungsvermögens aus Traubenzucker [Brentano (6)]. Das Freisein des Urins von Kreatin ist nach Brentano (5) ein sicheres Zeichen dafür, daß die Tiere ein völlig normales Glykogenbildungsvermögen aufweisen, d. h. also keinen „Glykogenzerfall" haben. In allen Versuchsgruppen wurde die Glykogenbildung nach 24stündigem Hungern untersucht.

Nach Abschluß der Hungerperiode bekamen die Tiere in allen Versuchen je 0,5 g Traubenzucker pro 100 g Körpergewicht in 25%iger wässeriger Lösung durch die Schlundsonde. 3 Stunden später, also zu einer Zeit, wo der Traubenzucker bei der Ratte einwandfrei resorbiert und assimiliert wird, bekam ein Teil der Tiere Veritol, Pervitin, Sympatol bzw. Adrenalin in bestimmten Dosen (vgl. Tabelle 1a), ein anderer Teil diente zur Kontrolle.

Es wurde darauf der absolute Glykogengehalt der ganzen Leber und der beiden Hinterschenkel nach dem Pflügerschen Verfahren bestimmt. Die Herausnahme der Hinterschenkel erfolgte dabei genau nach den Angaben von Pflug (23). Die gefundenen absoluten Glykogenwerte, deren Größe entsprechend dem verschiedenen Gewicht der einzelnen Ratten sehr schwankt, wurden zwecks Vergleichs untereinander sämtlich auf ein Tiergewicht von 100 g umgerechnet. Diese zuerst von Cori und Cori (8) angegebene Versuchsanordnung mit der Berechnung des Glykogens in absoluten Gewichtswerten (d. h. in Milligramm) bietet vor der sonst üblichen Angabe relativer Substanzwerte (bezogen auf 100 g Organ) große Vorteile.

Das Ergebnis aller dieser Untersuchungen gibt Tabelle 1a anschaulich wieder, die den sehr deutlichen Unterschied für die Veritol-, Pervitin- und Sympatolwirkung einerseits und für die Adrenalinwirkung andererseits erkennen läßt. Die Durchschnittszahlen für die Kontrollen, die Veritol-Pervitin-, Sympatol- und Adrenalintiere, die sich gut miteinander vergleichen lassen, sind in Tabelle 1b übersichtlich zusammengestellt.

Im einzelnen zeigt sich, daß bei den unbehandelten Kontrollen der Glykogengehalt der Hinterschenkelmuskulatur im Mittel 73,36 mg beträgt, bei den Veritoltieren 73,52 mg, bei den Pervitintieren 73,29 mg und bei den Sympatoltieren 68,93 mg. Die Veritolratten haben also in ihrer Hinterschenkelmuskulatur 0,16 mg bzw. 1% mehr, die Pervitinratten 0,7 mg bzw. 0,9% weniger und die Sympatolratten 4,43 mg bzw. 9,3% weniger Glykogen als die Kontrollratten. Zweifellos fallen diese geringfügigen Unterschiede noch durchaus in den Bereich der normalen Schwankungsbreite des Muskelglykogens. Demgegenüber enthalten die Adrenalintiere nur 32,93 mg in beiden Hinterschenkeln, also um 40,43 mg bzw. 44,8% weniger Glykogen als die Kontrollen. Es geht somit aus dieser Versuchsreihe hervor, daß Veritol, Pervitin und Sympatol nicht annähernd zu dem katastrophalen Glykogenschwund in der quergestreiften Muskulatur führen, wie er vom Adrenalin bekannt ist.

Das Leberglykogen nimmt in unseren Versuchen, wie bereits Cori und Cori (8) als erste festgestellt haben, unter Adrenalin auf 47,36 mg Glykogen zu gegenüber einem Glykogengehalt von 25,12 mg bei den unbehandelten Kontrolltieren, was einem Anstieg um fast das Doppelte entspricht. Die Zunahme des Leberglykogens unter Adrenalin wird von Cori und Cori (8) in der Weise erklärt, daß Adrenalin das Muskelglykogen rasch bis zur Milchsäure abbaut, die ins Blut übertritt, in die Leber gelangt und dort zum großen Teil wieder zu Glykogen aufgebaut wird. Interessant ist nun die Tatsache, daß es unter Veritol, Pervitin und Sympatol zu keinem Zuwachs des Leberglykogens kommt.

Tabelle 1a. Absoluter Glykogengehalt in mg von beiden Hinterschenkeln (Muskel) und Leber, reduziert auf 100 g Ratte. I. Bei unbehandelten Tieren (= Kontrollen.) II. Nach Veritolinjektion (2 mg/kg). III. Nach Pervitininjektion (0,5 mg/kg). IV. Nach Sympatolinjektion (20 mg/kg). V. Nach Adrenalininjektion (0,2 mg/kg).

Zeit nach Std.	Tier Nr.	I. Kontrollen		Tier Nr.	II. Veritol		Tier Nr.	III. Pervitin		Tier Nr.	IV. Sympatol		Tier Nr.	V. Adrenalin	
		Leber	Muskel		Leber	Muskel		Leber	Muskel		Leber	Muskel		Leber	Muskel
	10	31,47	66,24	3	35,19	75,32	4	36,89	75,86	2	33,25	77,45	1	37,40	31,48
	21	32,35	76,17	27	31,52	84,21	28	31,48	67,40	25	25,78	63,54	23	64,28	22,57
	44	25,98	77,68	52	28,12	80,93	84	38,92	75,00	50	34,84	74,54	47	43,41	16,82
	75	26,00	70,01	82	28,91	65,98	54	21,11	67,49	80	29,59	65,98	78	43,16	26,25
2	102	20,51	69,55	108	22,69	71,53	110	34,84	87,27	106	27,85	64,64	104	56,74	35,67
	137	31,52	87,31	146	28,33	63,61	147	11,37	73,79	141	30,88	70,22	140	55,17	34,82
	166	15,07	72,50	207	28,70	71,61	206	22,25	66,12	170	14,88	56,48	168	35,77	29,12
	199	26,06	71,33	231	20,75	80,50	233	31,85	86,29	203	31,14	56,85	201	67,91	58,20
	222	28,01	78,00	172	13,79	73,79	175	8,94	71,92	229	24,72	76,66	224	41,42	33,21
Durchschnitt:		26,32	74,30		26,44	74,16		26,40	74,57		28,10	67,37		49,47	32,01
	5	25,45	73,03	83	12,19	64,87	9	24,37	62,81	7	23,24	57,02	6	40,65	24,72
	22	22,63	66,57	8	28,64	71,35	30	16,33	72,00	26	20,81	49,49	24	54,72	32,33
	46	22,30	90,38	29	28,33	57,00	55	30,00	77,81	51	23,21	73,92	48	46,92	23,84
	76	17,14	64,02	53	25,16	75,16	148	28,57	70,00	228	6,35	74,09	79	28,66	36,33
4	103	41,76	72,94	208	19,42	68,28	204	20,01	73,79	170	29,16	77,50	227	11,65	31,03
	138	26,28	73,14	109	31,94	73,61	85	13,21	51,42	81	15,73	66,55	139	62,41	45,86
	167	25,29	71,47	144	33,05	94,44	176	22,22	78,88	205	21,35	74,45	169	50,99	34,77
	200	22,85	70,35	232	4,55	73,33	234	17,03	79,25	145	30,51	84,61	202	41,07	43,75
	223	11,61	70,01	173	24,47	77,89	112	36,92	82,30	107	37,18	76,87	105	70,35	32,14
Durchschnitt:		23,92	72,43		23,08	72,88		23,18	72,02		23,06	70,50		45,26	33,86

Tabelle 1b. Zusammenfassung der Durchschnitte von Tabelle 1a.

Nach Stunden	Kontrollen		Veritol		Pervitin		Sympatol		Adrenalin	
	Leber	Muskel	Leber	Muskel	Leber	Muskel	Leber	Muskel	Leber	Muskel
2	26,32	74,30	26,44	74,16	26,40	74,57	28,10	67,37	49,47	32,01
4	23,92	72,43	23,08	72,88	23,18	72,02	23,06	70,50	45,26	33,86
Mittelwerte:	25,12	73,36	24,76	73,52	24,79	73,29	25,58	68,93	47,36	32,93

Zusammenfassend kann also gesagt werden, daß im Gegensatz zur Adrenalinwirkung das Muskel- und Leberglykogen durch Zufuhr von Veritol, Pervitin und Sympatol praktisch nicht beeinflußt wird. Diese Adrenalin-Ephedrinkörper lassen vor allem die drastischen Wirkungen, die das reine Adrenalin auf das Muskelglykogen ausübt, so gut wie völlig vermissen.

2. Einfluß des Veritols und anderer Adrenalin-Ephedrinkörper auf Blutzucker und Blutmilchsäure gesunder Kaninchen.

Wenn die Beobachtung richtig ist, daß die oben erwähnten Substanzen (Veritol, Pervitin, Sympatol) nur einen sehr geringen Einfluß auf das Muskel- und Leberglykogen haben, so dürfte nach Zufuhr dieser Stoffe — im Gegensatz zum Adrenalin — keine wesentliche Blutzucker- und Blutmilchsäuresteigerung nachweisbar sein. Zur Prüfung dieser Frage haben wir 5 gesunden, kreatinfreien Kaninchen in entsprechenden Abständen je 2 mg/kg Veritol, 0,5 mg/kg Pervitin, 20 mg/kg Sympatol und denselben Tieren zum Vergleich 0,2 mg/kg Adrenalin subcutan gespritzt. Das Ergebnis dieser Versuche (Mittelwerte) bringt Tabelle 2.

Bei gesunden Kaninchen führt die subcutane Injektion von 0.2 mg/kg Adrenalin durch starke Mobilisierung von Leberglykogen zu einer Hyperglykämie, die im Durchschnitt 271 mg% über dem Ausgangswert liegt, was einer relativen Steigerung des Blutzuckerspiegels von etwa 231 % entspricht. Im Gegensatz hierzu fehlt bei den gleichen Tieren die Blutzuckersteigerung nach Zufuhr von Veritol und Pervitin, während sie beim Sympatol gegenüber dem Adrenalin erheblich abgeschwächt ist. Im Durchschnitt der Sympatolversuche steigt der Blutzucker um 43 mg%, was einen relativen Zuwachs an Blutzucker um 40 % gegenüber dem Ausgangswert bedeutet. Schließlich sei in Bestätigung der Versuchsergebnisse von Pflug (23) darauf hingewiesen, daß die Sympatolwirkung auf den Blutzucker erheblich kürzer anhält als diejenige des Adrenalins.

Parallel mit dem Blutzucker ist auch die Blutmilchsäure unter der Einwirkung von Veritol, Pervitin und Sympatol im Vergleich zum Adrenalin untersucht worden. Adrenalin bewirkt in unseren Versuchen die bekannte starke Erhöhung des Blutmilchsäurespiegels um etwa 67.5 mg% bzw. relativ um 153 % des Ausgangswertes. Nach Veritol dagegen beträgt die Blutmilchsäuresteigerung bei denselben Tieren im Mittel nur 2 mg% bzw. relativ nur 6 % des Ausgangswertes. Die entsprechenden Anstiegszahlen nach Pervitin betragen im Durchschnitt 3 mg% bzw. relativ 8 % des Ausgangswertes und nach Sympatol 4 mg% bzw. relativ 10 % des Ausgangswertes. Diese geringfügige Milchsäuresteigerung nach Veritol, Pervitin und Sympatol ist, wie sich aus diesen Versuchen ergibt, mit der entsprechenden Adrenalinwirkung überhaupt nicht vergleichbar.

Tabelle 2. Verhalten des Blutzuckers und der Blutmilchsäure bei Kani (0,5 mg/kg), Sympatol (20 mg/kg) und Adrenalin (0,2 mg/kg

	Blutzucker in mg %								
	vorher	Nach							
		20′	40′	60′	90′	120′	150′	180′	210′	240′
Veritol	109	109	109	109	107	105	104	105	108	111
Pervitin	111	110	109	110	105	104	105	105	104	102
Sympatol ...	109	123	138	151	145	135	125	116	109	101
Adrenalin ...	117	179	233	280	334	374	388	383	345	296

Es geht somit aus dieser Versuchsgruppe hervor, daß in Ergänzung der Ergebnisse des vorigen Abschnitts Veritol, Pervitin und Sympatol keine oder nur ganz geringfügige Blutzucker- und Blutmilchsäuresteigerungen bei gesunden Kaninchen hervorrufen. Im Hinblick auf die Tatsache, daß die Kreislaufwirkung dieser adrenalinähnlichen Substanzen von erheblich längerer Dauer zu sein pflegt als diejenige des Adrenalins, ist die Feststellung von besonderem Interesse, daß nämlich die Dauer der Veritol-, Pervitin- und Sympatolwirkung auf Blutzucker und -milchsäure jeweils nur flüchtig ist und nicht länger als diejenige des Adrenalins anhält.

3. Einfluß des Veritols und anderer Adrenalin-Ephedrinkörper auf Blutzucker normaler und pankreasdiabetischer Hunde.

In dieser Versuchsreihe haben wir das Verhalten des Blutzuckers unter dem Einfluß der subcutanen Zufuhr von Veritol (1,5 mg/kg), Pervitin (1,5 mg kg) und Sympatol (20 mg/kg) im Vergleich zum Adrenalin (0,1 mg kg) bei je 2 normalen und pankreasdiabetischen Hunden untersucht. Die Ergebnisse gibt Tabelle 3 wieder. Der Blutzucker der stoffwechselgesunden Hunde nimmt im Mittel beim Veritol nur um 7 mg%, beim Pervitin um 12 mg% und beim Sympatol um 11 mg% über den Ausgangswert zu gegenüber einem Anstieg um 121 mg% nach der Adrenalininjektion bei den gleichen Tieren. Nicht viel anders liegen die Verhältnisse bei den beiden pankreasdiabetischen Hunden. Hier beträgt nach Adrenalinzufuhr die relative Steigerung des Blutzuckerspiegels durchschnittlich 33%, während bei denselben Hunden Veritol-, Pervitin- und Sympatolinjektionen praktisch keine Blutzuckersteigerung hervorrufen. Diese Beobachtungen bestätigen also die Richtigkeit unserer obigen Untersuchungen, die gleichfalls das Ausbleiben einer nennenswerten Hyperglykämie nach Veritol, Pervitin und Sympatol beim Kaninchen ergeben hatten.

4. Einfluß des Veritols und anderer Adrenalin-Ephedrinkörper auf die Glykosurie.

Daß die Adrenalineinspritzung beim Warmblüter eine Glykosurie erzeugt, ist seit langem bekannt. Es interessierte uns in diesem Versuchs-

en nach subcutaner Injektion von Veritol (2 mg/kg), Pervitin
rchschnittswerte von je 5 Blutzucker- und Blutmilchsäurekurven.

soluter stieg in ng %	Relativer Anstieg in % des Ausgangswertes	Blutmilchsäure in mg %						Absoluter Anstieg in mg %	Relativer Anstieg in % des Ausgangswertes
		vorher	Nach						
			20′	40′	60′	90′	120′		
3	3	36,0	35,0	36,5	38,0	37,0	36,0	2	6
3	3	40,0	40,0	41,5	42,0	43,0	41,0	3	8
43	40	38,5	39,0	40,2	41,0	42,5	40,0	4	10
271	231	44,0	76,5	93,7	111,5	86,2	58,5	67	153

Tabelle 3. Das Verhalten des Blutzuckers unter dem Einfluß der subcutanen Injektion von Veritol (1,5 mg/kg), Pervitin (1,5 mg/kg) und Sympatol (20 mg/kg) im Vergleich zum Adrenalin (0,1 mg/kg) bei zwei normalen und zwei pankreasdiabetischen Hunden.

		Blutzucker in mg %								Absoluter Anstieg in mg %	Relativer Anstieg in % über den Ausgangswert
		vorher	Nach								
			20′	40′	60′	80′	100′	120′	150′	180′	
		A. Stoffwechselgesunde Hunde									
Hund 1	Veritol ..	101	101	104	108	110	104	101	104	101	1	9
	Pervitin .	93	96	100	104	106	98	93	89	91	13	14
	Sympatol	90	93	97	102	100	97	95	90	86	12	13
	Adrenalin	96	124	175	185	211	230	211	199	166	134	139
Hund 2	Veritol ..	90	96	94	92	91	88	92	91	88	6	7
	Pervitin .	90	94	100	96	101	94	90	89	86	11	12
	Sympatol	96	98	102	104	106	102	96	92	90	10	10
	Adrenalin	106	145	174	188	214	208	198	185	175	108	102
		B. Pankreasdiabetische Hunde									
Hund 3	Veritol ..	340	344	348	342	340	338	340	336	332	8	2
	Pervitin .	344	340	344	348	356	350	345	338	332	12	3
	Sympatol	396	396	400	404	409	406	400	396	388	13	3
	Adrenalin	360	412	428	432	450	454	496	460	450	136	37
Hund 4	Veritol ..	410	402	408	418	422	418	414	410	400	12	3
	Pervitin .	446	446	442	446	450	450	446	442	432	6	1
	Sympatol	454	458	462	464	466	472	466	456	454	18	4
	Adrenalin	400	424	446	468	492	506	518	504	488	118	29

abschnitt die Frage, obauch Veritol, Pervitinund Sympatol in hohen Dosen imstande sind,beim Kaninchen eine Harnzuckerausscheidung auszulösen. Zum Vergleich diente auch hier wiederum ein entsprechender Versuch mit Adrenalin am gleichen Tier.

Tabelle 4 zeigt, daß bei sämtlichen 4 Kaninchen Adrenalin eine beträchtliche Zuckerausscheidung in den Harn

Tabelle 4. Harnzuckerausscheidung bei Kaninchen nach subcutaner Veritol- (20 mg/kg), Pervitin- (2,5 mg/kg), Sympatol- (120 mg/kg) und Adrenalingabe (1,5 mg kg).

Tier Nr.	Harnzucker in g nach Zufuhr von			
	Veritol	Pervitin	Sympatol	Adrenalin
1	—	—	—	12,5
2	—	—	—	8,0
3	—	—	—	9,5
4	—	—	—	11,0

bewirkt. Im Gegensatz hierzu beobachtet man nach Veritol-, Pervitin- und Sympatolgaben ein vollständiges Fehlen der Glykosurie. Es läßt sich aus diesen Versuchen schließen, daß trotz der hohen Dosierung die leberglykogenmobilisierende Wirkung des Veritols, Pervitins und Sympatols nur minimal sein kann.

5. Einfluß des Veritols und anderer Adrenalin-Ephedrinkörper auf die Kreatinurie.

Tabelle 5. Kreatinurie in mg bei Ratten nach subcutaner Injektion von Veritol (2 mg/kg), Pervitin (0,5 mg/kg), Sympatol (20 mg/kg) bzw. Adrenalin (0,2 mg/kg).

Tier Nr.	vorher	In den Tagen nach Adrenalin			Veritol		Pervitin		Sympatol	
		1	2	3	vorher	nachher	vorher	nachher	vorher	nachher
1	—	3,0	2,2	1,5	—	—	—	—	—	—
2	—	2,0	0,8	—	—	—	—	—	—	—
3	—	2,4	1,2	—	—	—	—	—	—	—
4	—	2,0	—	—	—	—	—	—	—	—

Neben der starken Blutzucker- und Blutmilchsäuresteigerung zeichnet sich das Adrenalin noch durch erhöhte Kreatinausscheidung in den Harn aus. Die Kreatinurie ist nach Brentano (4) ein zuverlässiger und gleichzeitig sehr empfindlicher Test für das Auftreten eines Glykogenzerfalls. Nach den Versuchsdaten, die in Tabelle 5 angegeben sind, findet sich bei allen Tieren vor der Adrenalininjektion kein Kreatin im Harn, dagegen beobachtet man nach subcutaner Adrenalingabe jedesmal eine mäßige Kreatinurie. Wichtig ist die Feststellung, daß Veritol, Pervitin und Sympatol nach der in Tabelle 5 angegebenen Dosierung keine Kreatinausscheidung in den Harn verursachen.

II. Klinische Ergebnisse.

Der Arzt ist im allgemeinen nicht geneigt, neue Arzneimittel sogleich in sein Verordnungsgut aufzunehmen, besonders wenn es sich um Medikamente handelt, von denen eine große Zuverlässigkeit der Wirkung gefordert werden muß. Wenn die tierexperimentellen Befunde auch hoch gewertet werden müssen, so sind sie doch oft nur mit Einschränkung auf den Menschen übertragbar. Darum haben wir die klinisch so wichtige Frage untersucht, ob die experimentell gesicherte Ungiftigkeit der Adrenalin-Ephedrinkörper Veritol, Pervitin und Sympatol im Kohlehydratstoffwechsel auch beim Menschen zutrifft.

1. Einfluß des Veritols und anderer Adrenalin-Ephedrinkörper auf den Blutzucker Gesunder und Diabetiker.

Unsere klinischen Ergebnisse beim Menschen stützen sich auf 4 Stoffwechselgesunde mit indifferenten Erkrankungen und auf 4 Diabetiker ohne Acetonurie. An verschiedenen Tagen werden den Versuchspersonen

morgens nüchtern 20 mg Veritol, 15 mg Pervitin, 180 mg Sympatol und 1 mg Adrenalin subcutan gespritzt, wobei die Wirkung dieser Substanzen auf den Blutzuckerspiegel geprüft wird. Alle Untersuchungen sind nur bei kreatinfreiem Harn angestellt worden.

Das Ergebnis dieser Untersuchungen geht aus Tabelle 6 hervor. Bei den Stoffwechselgesunden sehen wir — im Gegensatz zum Adrenalin — nach Veritol-, Pervitin- und Sympatolgaben keine verwertbare Beeinflussung des Blutzuckers. Der relative Blutzuckeranstieg beträgt beim Adrenalin durchschnittlich 103 % des Ausgangswertes, während er beim Veritol mit 5 %, beim Pervitin mit 6 % und beim Sympatol mit 7 % wesentlich niedriger liegt.

Von besonderem Interesse ist vor allem die Frage, wie sich der Blutzuckergehalt von Diabetikern nach subcutaner Zufuhr der oben erwähnten Stoffe verhält. Die in Tabelle 6 wiedergegebenen Werte zeigen das gleiche Verhalten des Blutzuckers wie bei den Stoffwechselgesunden. Während es nach Adrenalinzufuhr zu einer deutlichen Blutzuckersteigerung (im Mittel um 105 mg%) kommt, wird durch Veritol-, Pervitin- und Sympatolgaben in den oben angeführten Dosen der an und für sich hohe Blutzucker der Diabetiker praktisch nicht beeinflußt. Die absolute Blutzuckererhöhung beträgt bei Zuckerkranken im Mittel nach Veritolzufuhr 5 mg%, nach Pervitininjektion 9 mg% und nach Sympatolgabe 10 mg%. Wir stellen also abschließend fest, daß — im Gegensatz zum Adrenalin — Veritol, Pervitin und Sympatol in den angegebenen Mengen weder bei Stoffwechselgesunden noch bei Zuckerkranken eine Blutzuckersteigerung hervorrufen.

2. Einfluß des Veritols und anderer Adrenalin-Ephedrinkörper auf die Blutmilchsäure Gesunder und Diabetiker.

Parallel mit dem Blutzucker ist auch die Blutmilchsäure bei Gesunden und Diabetikern unter dem Einfluß von Veritol, Pervitin und Sympatol untersucht worden. Wie Tabelle 7 zeigt, beträgt im Mittel bei Gesunden die Erhöhung des Blutmilchsäurespiegels nach Veritol 1.7 mg% bzw. relativ 21 % des Ausgangswertes, nach Pervitin 3,5 mg% bzw. relativ 41 % des Ausgangswertes und nach Sympatol 2,5 mg% bzw. relativ 30 % des Ausgangswertes gegenüber einem durchschnittlichen Zuwachs von 21 mg% nach Adrenalin, was eine relative Zunahme an Blutmilchsäure um 269 % gegenüber dem Ausgangswert bedeutet. Der Veritoleffekt auf die Blutmilchsäure entspricht also nur dem 12. Teil, der Pervitineffekt dem 6. Teil und der Sympatoleffekt nur dem 9. Teil der Adrenalinwirkung.

Beim Diabetiker ist die Beeinflussung der Blutmilchsäure durch die oben erwähnten Substanzen noch viel geringer, wie aus Tabelle 7 hervorgeht. Hier beträgt im Durchschnitt die relative Steigerung des Blutmilchsäurespiegels nach Veritol 6 %, nach Pervitin 7 % und nach Sympatol 6 % des Ausgangswertes, während der Blutmilchsäureanstieg nach Adrenalin

Tabelle 6. Das Verhalten des Blutzuckers unter dem Einfluß der subcutanen Zufuhr von Veritol (20 mg), Pervitin (15 mg), Sympatol (180 mg) bzw. Adrenalin (1 mg).

		Blutzucker in mg%							Absoluter Anstieg in mg%	Relativer Anstieg in % über den Ausgangswert
		vorher	Nach 20′	40′	60′	80′	100′	120′	150′		
A. Stoffwechselgesunde.											
Ka. 28 J. Gastritis	Adrenalin	85	125	136	145	147	159	134	127	74	87
	Veritol	93	96	87	87	92	89	87	83	3	3
	Pervitin	90	90	92	94	92	90	90	88	4	4
	Sympatol	80	84	84	71	66	66	56	58	4	5
Po. 22 J. Ulcus duodeni	Adrenalin	94	148	174	214	236	220	160	122	122	129
	Veritol	90	92	96	94	92	90	88	90	6	6
	Pervitin	100	104	108	106	102	98	96	92	8	8
	Sympatol	96	100	105	102	100	96	94	96	9	9
Al. 54 J. Cholecystopathie	Adrenalin	88	142	166	186	158	124	102	90	98	111
	Veritol	82	84	86	86	84	80	78	76	4	4
	Pervitin	90	92	92	93	90	90	88	90	3	3
	Sympatol	86	90	92	92	90	82	80	80	6	6
We. 40 J. Nephrolithiasis	Adrenalin	100	152	186	172	148	130	114	102	86	86
	Veritol	92	92	96	98	94	90	90	86	6	6
	Pervitin	90	94	98	100	96	92	88	84	10	11
	Sympatol	96	100	104	102	96	94	90	90	8	8
Durchschnitt	Adrenalin	92	142	165	179	172	158	127	110	95	103
	Veritol	89	91	91	91	90	87	86	84	5	5
	Pervitin	92	95	97	98	95	92	90	88	6	6
	Sympatol	89	93	96	92	88	84	80	81	7	7
B. Diabetiker.											
Bro. 24 J. Diabetes mellitus	Adrenalin	280	324	346	370	370	356	344	332	90	32
	Veritol	248	250	254	252	248	242	240	240	6	2
	Pervitin	262	266	270	272	268	268	260	254	10	3
	Sympatol	270	274	280	282	276	270	264	258	12	4
Schu. 59 J. Diabetes mellitus	Adrenalin	166	206	238	270	264	260	260	252	104	62
	Veritol	170	172	172	164	168	170	160	162	2	1
	Pervitin	154	154	158	158	150	150	142	140	4	2
	Sympatol	180	184	186	189	184	180	174	170	9	5
Ri. 42 J. Diabetes mellitus	Adrenalin	218	244	278	336	330	326	314	302	118	54
	Veritol	210	210	214	208	202	194	190	188	4	2
	Pervitin	234	240	240	242	236	228	220	216	8	3
	Sympatol	228	230	234	230	226	220	214	206	6	2
Le. 62 J. Diabetes mellitus	Adrenalin	182	236	274	292	290	282	266	248	110	60
	Veritol	170	172	176	178	174	174	170	164	8	4
	Pervitin	194	198	204	208	206	200	202	196	14	7
	Sympatol	176	180	184	188	188	180	176	170	12	6
Durchschnitt	Adrenalin	211	252	284	317	313	306	296	283	105	52
	Veritol	199	201	204	200	198	195	190	188	5	2
	Pervitin	211	214	218	220	215	211	206	201	9	4
	Sympatol	213	217	221	222	218	212	207	201	10	4

im Mittel 96% über dem Ausgangswert liegt. Aus diesem Verhalten der Blutmilchsäure können wir schließen, daß Veritol, Pervitin und Sympatol

Tabelle 7. Das Verhalten der Blutmilchsäure unter dem Einfluß der subcutanen Zufuhr von Veritol (20 mg), Pervitin (15 mg), Sympatol (180 mg) bzw. Adrenalin (1 mg).

		Blutmilchsäure in mg%						Absoluter Anstieg in mg%	Relativer Anstieg in % über den Ausgangswert
		vorher	Nach 20′	40′	60′	90′	120′		
			A. Stoffwechselgesunde						
Ka. 28 J. Gastritis	Adrenalin	7	14,5	19	12,5	10	9	12	171
	Veritol	7	7	8	7,5	7,5	7	1	14
	Pervitin	8	7	10	9	8	7,5	2	25
	Sympatol	7	7	7,5	8,5	8	7	1,5	21
Po. 22 J. Ulcus duodeni	Adrenalin	7,5	26	35,5	30	17,5	12	28	373
	Veritol	8	7	10	9	8,5	8	2	25
	Pervitin	8,5	9,5	12,5	11	10	9	4	47
	Sympatol	8,5	10	11	10,5	9,5	8	2,5	29
Al. 54 J. Cholecystopathie	Adrenalin	9	28,5	23	18	14,5	11	19,5	216
	Veritol	8,5	9	9,5	9	8,5	8	1	11
	Pervitin	9	10	12	10,5	9	9	3	33
	Sympatol	9	9,5	11	10	9,5	8,5	2	22
We. 40 J. Nephrolithiasis	Adrenalin	8	27	32,5	29	18,5	12	24,5	306
	Veritol	8,5	9	11,5	11	10	9	3	35
	Pervitin	8,5	11,5	13,5	12	10	9	5	58
	Sympatol	8	9,5	12	10,5	9,5	8	4	50
Durchschnitt	Adrenalin	7,8	24	27,5	22,4	15,1	11	21	269
	Veritol	8	8	9,7	9	8,6	8	1,7	21
	Pervitin	8,5	9,5	12	10,6	9,2	8,6	3,5	41
	Sympatol	8,1	9	10,3	9,9	8,6	7,8	2,5	30
			B. Diabetiker						
Bro. 24 J. Diabetes mellitus	Adrenalin	9	10	14,2	16,5	15	14,2	7,5	83
	Veritol	9,5	9,5	9	9,5	9	9	0	0
	Pervitin	9	9	10,5	10	9,5	9,5	1,5	16
	Sympatol	10	10	9,5	10,5	10	9,5	0,5	5
Schu. 59 J. Diabetes mellitus	Adrenalin	12	14	26	23,5	21	20	14	116
	Veritol	11,5	11,5	12	13	11,5	11	1,5	13
	Pervitin	11,5	11	12	11,5	11,5	11	1	8
	Sympatol	12	11,5	12	11,5	12	12	0	0
Ri. 42 J. Diabetes mellitus	Adrenalin	11	10,5	13	19	17	15,5	8	72
	Veritol	10	10	11	10,5	10	10	1	10
	Pervitin	10,5	10	10,5	10,5	10	10,5	0	0
	Sympatol	11	10,5	11	12	11,5	11	1	9
Le. 62 J. Diabetes mellitus	Adrenalin	10	12	21,5	20	18,5	16	11,5	115
	Veritol	10	9,5	9,5	10	9,5	10	0	0
	Pervitin	9,5	9	9,5	10	9,5	9	0,5	5
	Sympatol	10	10	10,5	11	10	10	1	10
Durchschnitt	Adrenalin	10,5	11,6	18,7	19,7	17,9	16,4	10	96
	Veritol	10,2	10,1	10,4	10,7	10	10	0,6	6
	Pervitin	10,1	9,7	10,6	10,4	10,1	10	0,7	7
	Sympatol	10,7	10,5	10,7	11,2	10,9	10,6	0,6	6

auch beim Menschen — im Gegensatz zum Adrenalin — keinen Einfluß auf das Muskelglykogen haben.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Auf Grund der vorliegenden tierexperimentellen und klinischen Untersuchungen ist eindeutig zu ersehen, daß sich die sympathicotrope Wirkung der Adrenalin-Ephedrinkörper Veritol, Pervitin und Sympatol nur am Kreislauf und kaum am Stoffwechsel äußert. Im Tierversuch und beim Menschen werden die charakteristischen Zeichen der Stoffwechselwirkung des Adrenalins (Glykogenschwund in der Muskulatur, Glykogenzunahme in der Leber, Hyperglykämie, Glykosurie, Hyperlactacidämie, Kreatinurie) durch Veritol, Pervitin und Sympatol, die in ihrer Kreislaufwirkung dem Suprarenin sehr nahe stehen, es aber dabei an Wirkungsdauer noch übertreffen, nicht hervorgerufen. Bezüglich des Sympatols bedeuten unsere Untersuchungen eine Bestätigung der Ergebnisse von Pflug (23) sowie von Brentano und Pflug (7).

Es ist bekannt, daß Kreislauf- und Stoffwechselwirkungen des Adrenalins miteinander parallel verlaufen. Im Gegensatz hierzu besteht beim Veritol, Pervitin und Sympatol eine Dissoziation zwischen diesen beiden Größen. Wir haben gezeigt, daß bei den geprüften Stoffen der Adrenalin-Ephedrinreihe (Veritol, Pervitin, Sympatol) nur die Kreislaufwirkung gegenüber dem Adrenalin gesteigert ist, während umgekehrt die Stoffwechselwirkung im Vergleich zum Suprarenin abgeschwächt ist.

Unsere Ergebnisse sind nicht nur theoretisch interessant, sondern sie sind auch gleichzeitig für unser ärztliches Handeln von großer Bedeutung. Veritol, Pervitin und Sympatol sind zunächst als periphere Kreislaufmittel durch ihre stärker und länger anhaltende Kreislaufwirkung dem Adrenalin weit überlegen, darüber hinaus sind sie frei von fast jeder toxischen Nebenwirkung auf den Stoffwechsel, so daß sie zweifellos zu den besonders zweckmäßigen und ungefährlichen Kreislaufmitteln gerechnet werden können. Es braucht nicht weiter betont zu werden, daß auch in Zukunft die stoffwechselsteigernde Wirkung des Adrenalins ein unentbehrliches Heilmittel darstellt, insbesondere bei der Bekämpfung des hypoglykämischen Schocks und bei der Behandlung allergischer Zustände.

Zusammenfassung.

1. Das Muskel- und Leberglykogen wird durch Zufuhr von Veritol, Pervitin und Sympatol praktisch nicht beeinflußt.

2. Veritol, Pervitin und Sympatol rufen bei gesunden Kaninchen keine oder nur ganz geringe Blutzucker- und Blutmilchsäuresteigerungen hervor.

3. Pankreasdiabetische Hunde weisen nach Veritol-, Pervitin- und Sympatolgaben keine Blutzuckersteigerung auf.

4. Veritol, Pervitin und Sympatol führen weder zu Glykosurie noch zu Kreatinurie.

5. Veritol, Pervitin und Sympatol bewirken weder bei stoffwechselgesunden Menschen noch bei Zuckerkranken eine Erhöhung von Blutzucker und Blutmilchsäure.

6. Es besteht eine ausgesprochene Dissoziation zwischen Kreislauf- und Stoffwechselwirkung des Veritols, Pervitins und Sympatols, die chemisch der Adrenalin-Ephedrinreihe sehr nahe stehen.

Literatur.

1) Barger, G., u. H. Dale: J. Physiol. (Brit.) **41**, 19 (1910). — 2) Baumann, J.: Arch. klin. Chir. **186**, 461 (1936); **189**, 347 (1937). — 3) Bertram, F.: Erg. inn. Med. **43**, 258 (1932). — 4) Brentano, C.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **155**, 21 (1930); Dtsch. med. Wschr. **1932**, Nr. 18. — 5) Brentano, C.: Verh. dtsch. Ges. inn. Med. **47**, 441 (1935). — 6) Brentano, C.: Z. exper. Med. **98**, 677 (1936). — 7) Brentano, C., u. F. Pflug: Klin. Wschr. **1938**, II, S. 979. — 8) Cori, C. F., u. G. T. Cori: J. biol. Chem. (Am.) **79**, 309 (1928); **86**, 375 (1930). — 9) Ehrismann, O.: Dtsch. med. Wschr. **1927** II, S. 1263. — 10) Ehrismann, O., u. G. Maloff: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **136**, 172 (1928). — 11) Folin, O.: Hoppe-Seylers Z. **41**, 223 (1904). — 12) Franek, W.: Diss. Heidelberg, 1938. — 13) Frank, E., u. G. Kratz: Ther. Gegenwart **1932**, S. 394. — 14) Franke, H.: Fschr. Ther. **14**, 2, 80 (1938). — 15) Friedrichs, H.: Diss. Berlin, 1939. — 16) Hagedorn, H. C., u. B. N. Jensen: Biochem. Z. **135**, 46 (1923). — 17) Hauschild, F.: Klin. Wschr. **1938** II, S. 1257; Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 465 (1939). — 18) Herlitzka, L.: La Médicina Contemporanea (Turin) **1938**, S. 395. — 19) Kottlors, E., u. H. Faust: Med. Klin. **1931**, I, S. 471. — 20) Lasch, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **124**, 231 (1927). — 21) Laszlo, D., u. Z. Dische: Biochem. Z. **187**, 344 (1926). — 22) Pflüger, E.: Das Glykogen und seine Beziehungen zur Zuckerkrankheit. Bonn 1905. — 23) Pflug, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 64 (1938). — 24) Poczka, N., u. F. Steigerwaldt: Z. exper. Med. **96**, 20 (1935). — 25) Rein, H.: Klin. Wschr. **1937**, I, S. 700; Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 617 (1937). — 26) Riechert, W., u. H. Schmieder: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **198**, 121 (1941). — 27) O. Riesser u. C. Brentano: Ebenda **155**, 1 (1930). — 28) Rühl, A.: Ebenda **164**, 8 (1932). — 29) Schaumann, O.: Ebenda **160**, 127 (1931). — 30) Schneider, D.: Klin. Wschr. **1937**, I, S. 736. — 31) Seifert, B.: Dtsch. med. Wschr. **1939**, I, S. 913. — 32) Taeger, H.: Verh. dtsch. Ges. Kreisl.forsch. **11**, 322 (1938). — 33) Zipf, K.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 679 (1938).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Leipzig.
(Direktor: O. Gros.)

Über die Beeinflussung des Histamingehalts der Haut durch Reizstoffe.

III. Mitteilung.

Von

Hans T. A. Haas.

(Eingegangen am 12. April 1942.)

Bekanntlich gibt es eine Reihe von Pharmaka, die geeignet sind, den Einfluß lokalreizender und entzündungserregender Stoffe abzuschwächen oder aufzuheben. Die Wirkung dieser entzündungshemmenden Stoffe soll dabei in erster Linie auf einer Beseitigung eines einzelnen Symptoms aus dem komplexen Vorgang der Entzündung beruhen und zwar durch eine Beeinflussung der entzündungserregenden Stoffe in ihren primären Angriffspunkten an Nerven, Gefäßen und Gewebszellen[1].

Wie sich in früheren Untersuchungen[2] nachweisen ließ, bewirkt eine größere Anzahl von Stoffen, die auf Haut und Schleimhäute eine lokalreizende Wirkung ausüben, beim Aufbringen auf die unverletzte Rattenhaut eine Zunahme des Hauthistamingehalts. Es lag daher nahe, zu prüfen, ob die entzündungshemmenden Mittel gleichzeitig mit der Abschwächung bzw. Verhütung der entzündlichen Reaktionen an der Haut auch die vermehrte Freisetzung von Histamin unterbinden. Durch diese Fragestellung hofften wir zugleich weitere Anhaltspunkte und Hinweise über die Bedeutung der Freisetzung von Histamin durch die hautreizenden Substanzen zu gewinnen. Mit der Feststellung allein, daß viele Hautreizstoffe eine Histaminvermehrung in der Haut auslösen, ist ebenso wenig wie durch die indirekte Beweisführung der Versuche von Lewis[3] sicher nachgewiesen, daß die Entstehung der entzündlichen Veränderungen und die Histaminausschüttung unbedingt ursächlich miteinander verknüpft sind. Die Zunahme des Hauthistamins geht jedenfalls nicht immer zeitlich mit dem Ablauf und der Dauer der sichtbaren Hautveränderungen parallel. Auch in quantitativer Hinsicht entspricht das Ausmaß der Hautschädigung nur selten der Verschiebung der Histaminwerte. Infolgedessen kann die Rolle, die das Histamin bei der Entstehung und Ausbreitung der Entzündungsvorgänge spielt, keineswegs als geklärt betrachtet werden.

---

* Herrn Prof. Gros zum 65. Geburtstage gewidmet.

[1] Heubner: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **107**, 129 (1925). — [2] Haas: Ebenda **197**, 161 (1940); siehe vorangehende Arbeit **199**, 629 (1942). — [3] Lewis: The Blood vessels of the hum skin and their resp. London 1927.

Unter den entzündungshemmenden Stoffen wurde ein Narkoticum untersucht und zwar der Paraldehyd, bei dem in schwach narkotischen Gaben mit einer wesentlichen Beeinflussung der Kreislaufverhältnisse und des intermediären Stoffwechsels nicht gerechnet werden braucht. Außerdem wurden einige orientierende Versuche mit Calcium durchgeführt. Für die Narkotica konnte Hofmann [4] vor kurzem erneut in Erweiterung älterer Befunde [5–10] eine hemmende Wirkung auf die Senfölentzündung festlegen. Die entzündungshemmende Eigenschaft des Calciums ist durch experimentelle Untersuchungen [11–15] und auch durch klinische Befunde vielfach belegt.

I.

In einer ersten Versuchsreihe wurde der Einfluß von Paraldehyd auf Senföl und Crotonöl untersucht, für die eine vermehrte Freisetzung von Histamin innerhalb eines bestimmten Zeitraumes nach ihrem Aufbringen auf die Haut durch die früheren Untersuchungen als gesichert gelten darf.

Die Versuche wurden wiederum an Ratten durchgeführt. Für die Bestimmung des Hauthistamins wurde die gleiche Methodik wie in den früheren Arbeiten eingehalten. Die Applikation der hautreizenden Substanzen erfolgte zunächst durch ein einfaches Aufträufeln auf die Haut. Es wurden dabei jeweils 4 Tropfen aufgegeben, die über einen Hautbezirk von etwa 4 qcm Größe gleichmäßig verteilt wurden. Die Einwirkungszeiten betrugen beim Senföl stets 10 Minuten. Das Crotonöl ließen wir stets 1 Stunde lang auf die Rattenhaut einwirken. Zu diesen Zeitpunkten ist ein eindeutiger Anstieg des Histamins über die Histaminwerte der unbehandelten Haut festzustellen.

Der Paraldehyd wurde subcutan zugeführt und zwar in einer Dosierung von 100 mg/100 g Ratte. Die Injektion erfolgte stets in einem Bezirk der Haut, der für die spätere Behandlung mit den Hautreizstoffen nicht in Frage kam. Bei der gewählten Dosierung des Paraldehyds stellte sich spätestens nach 20 Min. Seitenlage ein, die durchschnittlich $2-2^1/_2$ Stunden anhält. Eine halbe Stunde nach der Injektion des Paraldehyds und dem Eintritt der Narkose wurde den Ratten auf einen mehrere Stunden zuvor rasierten Bezirk der Rückenhaut Senföl bzw. Crotonöl aufgetropft, die dann für die angegebene Zeitdauer von 10 bzw. 60 Min. auf die Haut einwirkten.

---

[4] Hofmann: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 87 (1940). — [5] Shimura: Virchows Arch. **251**, 161 (1924). — [6] Lipschitz: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **138**, 163 (1928); **151**, 267 (1930). — [7] Peng: Ebenda **151**, 270 (1930). — [8] Guggenheim: Ebenda **151**, 279 (1930). — [9] Winkler: Ebenda **151**, 302 (1930). — [10] Fröhlich: Ebenda **151**, 323 (1930). — [11] Wright: Lancet **153**, 807 (1896). — [12] Chiari u. Januschke: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **65**, 120 (1911). — [13] Leo: Dtsch. med. Wschr. **1911**, S. 5. — [14] Rosenow: Berl. klin. Wschr. **1920**, S. 1147; Z. exper. Med. **4**, 427 (1916). — [15] Starkenstein: Münch. med. Wschr. **1919**, S. 205.

Die in diesen Versuchen ermittelten Histaminwerte sind in der Tabelle 1 enthalten. Die Angaben über die Histaminwerte der normalen unbehandelten Haut sind aus der früheren Arbeit entnommen.

Tabelle 1. Histaminwerte in γ/g Haut.

Normalversuche	22	21	18	22	19	22	21	25	24	17	22	26	19	21	Mittelwert 21
Vorbehandlung	Dos. mg/100 g		Hautreizstoff					Einwirkungsdauer			Histaminwerte in γ/g Haut				Mittelwert
—	—		Senföl 4 ggt					10′			36	41	28	28 35	34
Paraldehyd	100		„					10			22	24	20	21	22
—	—		Crotonöl 4 ggt					60			28	35	26	29 33	30
Paraldehyd	100		„					60			21	27	24	22	23

Nach der Vorbehandlung mit Paraldehyd fanden sich in den Hautextrakten stets Histaminwerte, die innerhalb der normalen Schwankungsbreite liegen. Die Unterschiede im Histamingehalt der nur mit Senföl bzw. Crotonöl behandelten Ratten und der mit Paraldehyd vorbehandelten Tiere sind genügend groß, daß sie sich auch bei einer statistischen Auswertung als reell erweisen. Es kann somit die Verhinderung der vermehrten Histaminfreisetzung durch Paraldehyd trotz der relativ geringen Versuchszahlen als genügend gesichert gelten.

In einer zweiten Versuchsreihe wurden die unteren Grenzdosen vom Paraldehyd ermittelt, die noch imstande sind, die Histaminausschüttung durch Senföl in der Haut zu verhüten. Die Zufuhr des Paraldehyds erfolgte subcutan eine halbe Stunde vor dem Auftragen des hautreizenden Senföls und zwar wiederum abseits von dem Hautbezirk, der für die Behandlung mit Senföl in Frage kam. Zur Erzielung konstanterer Versuchsbedingungen wurde bei diesen Untersuchungen das Senföl nicht mehr durch Aufträufeln auf die Haut gebracht, sondern mittels dicker Filzstückchen, die mit der Senföllösung gut durchtränkt waren. Das Senföl war dabei im Verhältnis 1 : 25 in Aceton gelöst. Diese Lösung bewirkt an der unvorbehandelten Rattenhaut stets eine vermehrte Ausschüttung von Histamin, wenn die Filzstückchen 10 oder 20 Min. lang mit der Haut in Berührung bleiben.

Auch bei dieser Versuchsanordnung bestätigte sich, daß Paraldehyd in einer Dosierung von 100 mg/100 g die histaminausschüttende Wirkung des Senföls zu verhüten vermag. Der gleiche Effekt kommt dem Paraldehyd noch in niedrigerer Dosierung zu. Bei einer Dosierung von 50, 20 und 10 mg 100 g und selbst bei 5 mg/100 g kommen irgendwelche Abweichungen des Histamingehalts nicht zustande, auch wenn das Senföl 20 Min. lang einwirkt. Die untere Grenzdosis wurde mit 1 mg/100 g ermittelt. Gaben von 0.5 und 0.1 mg/100 g erwiesen sich unwirksam, so daß der Senföleffekt trotz der Vorbehandlung der Tiere wieder deutlich in Erscheinung trat und eine vermehrte Freisetzung von Histamin nachweisbar war. Damit

kommt dem Paraldehyd selbst in einem Dosierungsbereich der weit unterhalb der Seitenlagendosis liegt (nach Tunger 60 mg/100 g, nach Gros und Haas 70 mg/100 g[16, 17]) noch eine eindeutige Hemmung des Senföleffektes auf den Histamingehalt der Haut zu.

Tabelle 2.

Vorbehandlung	Dos. mg/100 g	Hautreizstoff	Einwirkungsdauer	Histaminwerte in γ/g Haut	Mittelwerte
—	—	Senföl 1:25	10′	37 29 29	32
—	—	„	20	36 32	34
Paraldehyd 30′	100	Senföl 1:25	10′	20 22 23	22
	50	„	10	21 21 26	23
	20	„	10	22 26	24
		„	20	21 24	22
	10	„	10	25 22 24	24
		„	20	17 18 25	20
	5	„	10	24 18	21
		„	20	22 22	22
	1	„	10	24 22 18	21
		„	20	20 29 26	25
	0,5	„	10	29 27 29 24	27
	0,1	„	10	28 32 30	30

Die Beeinflussung der makroskopisch sichtbaren Hautveränderungen wie Rötung, Gefäßinjektion, war nur bei der Anwendung relativ hoher Dosen von Paraldehyd sicher nachweisbar, bei denen auch ein narkotischer Effekt ausgeprägt auftrat. So waren bei der Dosierung von 100 und 50 mg pro 100 g Paraldehyd die Hautreaktionen des Senföls stark abgeschwächt. Bei niedrigerer Dosierung (5 und 10 mg) traten dagegen die Reizerscheinungen des Senföls wieder deutlich zutage. Es zeigten sich diffuse Rötung und starke Gefäßinjektion besonders im Bereich des Unterhautzellgewebes. Es ist demnach auch in dieser Versuchsanordnung festzustellen, daß die Stärke der Hautrötung und die Freisetzung von Histamin nicht parallel gehen.

Die Hemmung der Histaminfreisetzung durch Senföl wird demgegenüber vom Paraldehyd noch bei einer Dosierung erzielt, wo ein tiefer narkotischer Effekt nicht mehr eintritt. Man darf aber selbst bei einem Dosierungsbereich, der weit unterhalb der Seitenlagendosis liegt, nicht mit einem völligen Fortfall der zentralen Wirkungen des Paraldehyd rechnen, da derartige Gaben sich schon zur Bekämpfung schwerer zentraler Erregungserscheinungen eignen und einen Schutz gegenüber sicher tödlich wirkenden Dosen bestimmter Analeptica gewähren[18]. So konnte bei der Bestimmung der niedrigsten Schutz entfaltenden Dosen von Paraldehyd gegenüber tödlichen Gaben von Cardiazol eine Gegenwirkung noch bei 14 mg/100 g

[16] Tunger: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **160**, 74 (1931). — [17] Gros u. Haas: Ebenda **182**, 348 (1936). — [18] Haas: Ebenda **184**, 468 (1937).

Paraldehyd erreicht werden. Beim Pikrotoxin lag die kleinste antagonistische Dosis gegenüber einer etwa gleich stark toxisch wirkenden Gabe bei 17 mg/100 g Paraldehyd, während beim Coramin erst 70 mg/100 g eine sichere Schutzwirkung erzielten. Diese antagonistischen Wirkungen des Paraldehyds sind aber sicherlich an eine depressive Beeinflussung des Zentralnervensystems gebunden. Es ist daher auch eine Beteiligung des zentralen Wirkungsmechanismus des Paraldehyds bei der Hemmung der Histaminfreisetzung durch Paraldehyd anzunehmen. Es erscheint aber andererseits fraglich, ob dieser zentral gerichtete Einfluß bei einer Dosierung von 5 und 1 mg/100 g Paraldehyd allein noch von ausschlaggebender Bedeutung für die Hemmung des Senföleinflusses auf den Histamingehalt der Haut ist, vor allem da die Möglichkeit besteht, daß dieser Effekt auch durch andere Wirkungskomponenten des Paraldehyds ausgelöst sein kann.

Eine Beeinflussung der peripheren nervösen Elemente der Haut kommt bei dieser niedrigen Dosierung sicherlich nur in einem derart geringen Umfang in Betracht, daß er kaum ausreichend sein dürfte, um die Ansprechbarkeit der nervösen Zellelemente in der Haut gegenüber den hautreizenden Substanzen maßgeblich abzuschwächen. Ebenso ist anscheinend eine Wirkung des Paraldehyds auf die Histaminase auszuschließen, da nach Best und Mc Henry [19] in der Haut die Histaminase gänzlich fehlen soll. Dafür besitzt der Paraldehyd wie alle Narkotica einen deutlich nachweisbaren Einfluß auf die Permeabilität der Zelle und die Durchlässigkeit der Grenzflächen und zwar im Bereich der narkotisch wirksamen Konzentrationen im Sinne einer Verminderung der Permeabilität [20–22]. Diese Wirkungskomponente des Paraldehyds läßt aber gerade seinen Einfluß auf die Histaminfreisetzung durch Hautreizstoffe verständlich erscheinen, da die lokale Wirkung des Histamins in den im Organismus vorkommenden Konzentrationen vor allem in einer Erweiterung der Kapillaren und einer Durchlässigkeitssteigerung der Zell- und Endothelmembranen besteht. Die zellabdichtende Wirkung des Paraldehyds ist demnach dem Histamineinfluß direkt entgegengerichtet. Es ist daher denkbar, daß die Narkotica auch durch die Beeinflussung der Permeabilität der Zellgrenzflächen den entzündungserregenden Stoffen entgegenwirken.

Durch den Nachweis, daß selbst bei einer örtlichen Vorbehandlung und der äußerlichen Einwirkung von Paraldehyd auf die Haut die Histaminausschüttung durch Senföl verhütet wird, konnten wir wenigstens glaubhaft machen, daß auch diese peripheren Wirkungskomponenten des Paraldehyds für die Unterdrückung der Histaminausschüttung unterstützend in Frage kommen. In Vorversuchen wurde dabei zunächst festgestellt, daß das Paraldehyd selbst in hohen Konzentrationen (1 : 10 in Aceton verdünnt) keinen Einfluß auf den Histamingehalt der Haut hat. Erst bei der An-

[19] Best u. Mc Henry: J. Physiol. (Brit.) **70**, 349 (1930). — [20] Gellhorn: Das Permeabilitätsproblem. Berlin, Springer, 1929. — [21] Winterstein: Die Narkose. Berlin, Springer, 1926. — [22] Seelich: Erg. Physiol. usw. **44**, 425 (1941).

wendung reinen Paraldehyds fanden sich zweimal unter 5 Untersuchungen leicht erhöhte Histaminwerte.

Tabelle 3.

	Einwirkungsdauer	Histaminwerte in γ/g Haut	Mittelwerte
Paraldehyd unverdünnt	10′	33 25 19	26
	30	25 28	27
„ 1 : 10 (Aceton)	30	23 17 26	22

In den Versuchen mit den Hautreizstoffen wurde der Paraldehyd zuvor äußerlich auf die Rattenhaut eine halbe Stunde lang zur Einwirkung gebracht. Die Applikation erfolgte wiederum mit Filzstückchen. Der Paraldehyd wurde in Aceton gelöst verwendet. Der gleiche Hautbezirk, der mit Paraldehyd vorbehandelt war, wurde nach Ablauf einer halben Stunde mit der Lösung von Senföl (1 : 25 in Aceton) und der zugehörigen Paraldehydkonzentration behandelt.

Tabelle 4.

Vorbehandlung	Konzentration	Hautreizstoff	Einwirkungsdauer	Histaminwerte in γ/g Haut	Mittelwerte
—	—	Senföl 1 : 25	10′	37 29 29	32
—	—	„	20	36 32	34
Paraldehyd 30′	1 : 100	Senföl 1 : 25	10′	19 17 24	23
	1 : 1000	„	10	19 22 21	21
	1 : 2500	„	10	25 30 29	28
	1 : 5000	„	10	29 32 30	30

Bei diesen Versuchen zeigte sich, daß eine Verdünnung von Paraldehyd in Aceton bis 1 : 1000 die Ausschüttung des Histamins durch Senföl verhütet, während Verdünnungen von 1 : 2000 und 1 : 5000 in dieser Hinsicht versagen. Bei dieser Applikation des Paraldehyds dürfte aber mit einer ausschlaggebenden Beteiligung zentraler Wirkungsmechanismen kaum zu rechnen sein, so daß also auch bei einer im wesentlichen auf die peripheren Gewebselemente beschränkten Wirkung des Paraldehyds der Senföleinfluß auf den Histamingehalt der Haut unterdrückt werden kann.

II.

In einigen weiteren Versuchen wurde außerdem der Einfluß des Calciums auf die Freisetzung des Histamins durch Senföl und Crotonöl untersucht. Das Calcium wurde in Form des Calcium Sandoz bzw. des TC 6 Schering subcutan injiziert und zwar wiederum abseits von dem Orte der späteren Zufuhr der Hautreizstoffe. Von beiden Calciumpräparaten wurde 1 ccm der handelsüblichen 10%igen Lösung/100 g Ratte zugeführt.

Die benutzten Calciumpräparate sind allerdings hinsichtlich ihres Calciumgehalts nicht gleichwertig. Nach den Angaben der herstellenden Firmen enthält das Calcium Sandoz/ccm 9 mg Calcium, während das TC 6 in der gleichen Flüssigkeitsmenge einen Gehalt von 15,3 mg Calcium aufweist Eine halbe Stunde nach der Injektion des Calciums wurden erst Senföl und Crotonöl auf die Haut gebracht; die Applikation der Hautreizstoffe geschah wiederum durch Aufträufeln von je 4 Tropfen. Die Einwirkungsdauer des Senföls war stets auf 10 Min. beschränkt, die des Crotonöls auf 1 Stunde.

Tabelle 5.

Vorbehandlung	Dos. mg/100	Hautreizstoff	Einwirkungsdauer	Histaminwerte in γ/g Haut	Mittelwert
	—	Senföl 4 ggt	10′	36 41 28 28 35	34
Calcium TC 6 . .	15,3	„	10	25 27 27 20	25
„ Sandoz	9,0	„	10	29 26 27	28
—	—	Crotonöl 4 gtt	60	28 35 26 29 33	30
Calcium TC 6 . .	15,3	„	60	21 25 24 22	23

Auch nach der Calciumvorbehandlung blieb die Freisetzung von Histamin in der Haut durch die benutzten lokalreizenden Substanzen aus. Die ermittelten Unterschiede lagen so günstig, daß sie auch einer statistischen Auswertung standhalten. Auch die entzündlichen Erscheinungen waren deutlich abgeschwächt, es fanden sich höchstens leichte Reizerscheinungen mit einer schwachen Rötung der Haut und einer gering vermehrten Gefäßinjektion im Bereich des Unterhautzellgewebes.

Auch beim Calcium wurden einige Versuche mit einer örtlichen Vorbehandlung der Haut durch Calcium vor der Zufuhr der Hautreizstoffe durchgeführt. Zunächst versuchten wir das Calcium (10%ige Lösung Calcium Sandoz) in Ungt. Glyc. aa gelöst in die Haut einzuführen, nachdem in Voruntersuchungen nachgewiesen worden war, daß die Behandlung der Haut mit Ungt. Glyc. und Aqu. dest. aa über eine halbe Stunde lang keinen Einfluß auf die Histaminausschüttung des nachträglich aufgetragenen Senföls hat. Auch der Zusatz von Calcium Sandoz zum Ungt. Glyc. aa bewirkte keine Änderung im Verhalten des Hauthistamins, so daß nach der Senföleinwirkung ein kräftiger Anstieg der Histaminwerte einsetzte.

In weiteren Versuchen wurde das Calcium mittels Elektroendosmose (EEO) nach einer im physiologischen Institut zu Leipzig entwickelten Technik in die Haut eingeführt*. Als Anode wurde eine Zn-Scheibe von 20 qcm Fläche benutzt; als Kathode eine mit Mull umwickelte Zn-Manschette, die auf Brust und Hals der Tiere gelegt wurde. Die Dauer der EEO betrug 15 Min., die Stromdichte 0,45—0,5 mA/qcm Anodenfläche. Bei der

* Für die Ermöglichung dieser Versuche und die Unterstützung bei ihrer Durchführung bin ich Herrn Prof. Gildemeister und Herrn Dr. Meusel zu Dank verpflichtet.

Einhaltung dieser Versuchsdauer und dieser Stromdichte wurde niemals eine Schädigung der Rückenhaut der Ratten festgestellt.

Tabelle 6.

Vorbehandlung	Hautreizstoff	Einwirkungsdauer	Histaminwerte in γ/g Haut	Mittelwerte
—	Senföl 4 ggt	10′	36 41 28 28 35	34
Ungt. Glyc. und Aq. dest. aa 30′	„	10	36 37 35 28	34
Ungt. Glyc. und Calc. Sand. aa 30	„	10	35 27	31
Calcium Sandoz (EEO) ... 15	„	10	25 27 21 24	24

Mit dieser Applikation des Calciums gelang es, den Senföleffekt auf das Hauthistamin abzuschwächen, so daß im wesentlichen ein Anstieg der Histaminwerte über die normale Schwankungsbreite hinaus nicht zustande kam. Diese Versuche bieten somit eine weitere Bestätigung für den hemmenden Einfluß des Calciums auf die Histaminfreisetzung durch bestimmte hautreizende Substanzen.

Zusammenfassung.

Bei der Vorbehandlung von Ratten mit Paraldehyd und Calcium tritt neben der Beeinflussung der lokalreizenden Wirkung von Senföl und Crotonöl auch eine Hemmung der Histaminausschüttung in der Haut ein, während an unbehandelten Tieren innerhalb eines bestimmten Zeitraumes nach dem Aufbringen dieser Reizstoffe auf die Haut eine vermehrte Freisetzung von Histamin regelmäßig zu beobachten ist. Die Abschwächung bzw. Aufhebung der Freisetzung von Histamin ist bei parenteraler Zufuhr und auch bei einer nur lokalen Vorbehandlung der Haut durch Paraldehyd und Calcium zu erzielen.

Für die Hemmung des Senföl- und Crotonöleinflusses auf den Histamingehalt der Haut durch Paraldehyd ist die depressive Beeinflussung des ZNS sicherlich nicht ohne Bedeutung; außerdem kommen für den Paraldehydeffekt wahrscheinlich auch periphere Wirkungskomponenten in Form einer Änderung der Permeabilität der Zellgrenzen in Betracht, während beim Calcium die Hemmung der Histaminfreisetzung in erster Linie durch seine zelldichtende Wirkung verursacht ist.

Der Beeinflussung der histaminausschüttenden Wirkung des Senföls durch Paraldehyd geht die Abschwächung der sichtbaren Reizerscheinungen an der Haut und seine entzündungshemmende Wirkung nicht völlig parallel, da die Hemmung der Histaminreaktion noch innerhalb eines Dosierungsbereiches vom Paraldehyd eintritt, bei dem eine Bekämpfung der Hautreizung nicht mehr gelingt und die Reizerscheinungen des Senföls wieder deutlich nachweisbar sind. Damit wird aber höchst fraglich, ob die vermehrte Freisetzung von Histamin durch bestimmte Hautreizstoffe an der Ausbildung der lokalen Reaktionen auf exogene Reize und vor allem am Zustandekommen der Gefäßveränderungen bestimmend mitwirkt.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Leipzig.
(Direktor: O. Gros.)

Über die pharmakologische Beeinflussung des anaphylaktischen Schocks durch Narkotica und Analeptica*.

Von

H. Hofmann.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 12. April 1942.)

I. Einleitung und Problemstellung.

Über die unspezifische Hemmung des anaphylaktischen Schocks (AS) existiert heute eine überaus umfangreiche Literatur. Es wurde die Wirkung von Kolloiden, Fetten Vitaminen, Toxinen, Hormonen, Enzymen, Proteinen, von Chemikalien aller Art, ja selbst die chirurgischer Eingriffe (Exstirpation innersekretorischer Drüsen usw.) auf die Anaphylaxiebereitschaft bzw. den AS geprüft. In einer zusammenfassenden Darstellung des einschlägigen Schrifttums berichten Hill und Martin[1] über die Ergebnisse von Untersuchungen mit insgesamt 250 verschiedenen Substanzen, die zur Beeinflussung des AS herangezogen wurden. Bei einem so überaus großen Aufgebot an experimentellen Arbeiten ist es erklärlich, daß die vorliegenden Versuchsergebnisse oft recht widersprechend sind. Eine kritische Durchsicht der Literatur zeigt, daß ein beträchtlicher Teil der Arbeiten an unzulänglicher Versuchsanordnung, zu geringer Tierzahl, Fehlen von Kontrollversuchen und anderen wesentlichen Mängeln krankt, so daß es meist nicht möglich ist, auf Grund des gebotenen experimentellen Beweismaterials endgültige Schlüsse zu ziehen. Dies gilt auch für Arbeiten, die über eine Gruppe von Pharmaka durchgeführt wurden, deren hemmende Wirkung auf den AS uns besonders interessant erscheint, den Narkotica.

Schon 1907 beschrieb Besredka[2] eine schockhemmende Wirkung des Äthers. Banzhaf und Famulener[3,4] konnten den AS durch vorherige Zufuhr von Chloralhydrat antagonistisch beeinflussen. (Dieser Befund wurde von Rosenau und Anderson[5,6] nicht bestätigt. Diese Autoren

* Herrn Prof. Dr. med. et phil. Oskar Gros zum 65. Geburtstag gewidmet.

[1] Hill u. Martin: Medicine **11**, 141 (1932). — [2] Besredka: Ann. Inst. Pasteur, Par. **21**, 950 (1907). — [3] Banzhaf u. Famulener: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **5**, 62 (1908). — [4] Banzhaf u. Famulener: J. infect. Dis. (Am.) **7**, 577 (1911). — [5] Rosenau u. Anderson: J. Med. Res. (Am.) **12**, 1 (1909). — [6] Rosenau u. Anderson: Hyg. Lab. Bull. **50**, 107 (1909).

benutzten zur Reinjektion eine Antigendosis, die als zu hoch angesehen werden muß.) Anderson und Schulz[7] sahen bei Kombination von Urethan mit Chloralhydrat und Adrenalin eine deutliche Schockhemmung, in ähnlicher Weise wurde in Versuchen mit Chloralose, Chloräthyl und Alkohol[8,9], mit Äther[2,10], Chloroform[11], Paraldehyd[6], Urethan[8], Alkohol[9], und Magnesiumsalzen[12] eine schockhemmende Wirkung beschrieben. Auf der anderen Seite fehlt es nicht an Beobachtungen, in denen eine derartige Wirkung nicht gefunden wurde. So sahen beispielsweise Rosenau und Anderson[5,6] und Banzhaf und Famulener[3,4] keine Schockhemmung nach Äther und Rosenau und Anderson beobachteten keine derartige Wirkung nach Zufuhr von Magnesiumsalzen. In allen diesen Untersuchungen erfolgte die Narkoticumgabe vor der Antigeninjektion. Bei Durchsicht der Arbeiten ist es nicht möglich, sich ein abschließendes Urteil zu bilden, da, wie schon oben erwähnt, die gebotenen experimentellen Unterlagen auch hier meist ungenügend sind. So finden wir Arbeiten, in denen keine Angaben über die Zahl der verwendeten Tiere gemacht werden[11], weiter solche mit mangelhaften oder fehlenden Kontrollversuchen, Beschreibungen ohne Protokolle und Details[8], Versuche mit ungleichmäßigen Antigendosen[10] und Untersuchungen mit ungenauen Angaben über den Zufuhrsweg des Antigens[7] sind vorhanden. Insbesondere finden wir aber über die jeweils verwendete Dosierung des Narkoticums und die im Zeitpunkt der Reinjektion erreichte Narkosetiefe nur ungenügende oder keine Angaben. Es erscheint uns aber außerordentlich wichtig, über diese Punkte genau orientiert zu sein, da sie für die Klärung des Mechanismus der Schockhemmung der Narkotica von größter Bedeutung sind. Es war daher wünschenswert, die Frage der Hemmung des AS durch Narkotica an einem größeren Tiermaterial unter Beachtung exakter Untersuchungsbedingungen zu studieren. Es kam uns dabei nicht nur darauf an, eine genaue Dosierung der verwendeten Narkotica und eine exakte Analyse des zur Zeit der Reinjektion bestehenden Narkosezustandes zu erzielen, sondern es sollte gleichzeitig an einem größeren Kollektiv geprüft werden, ob bei vergleichender Untersuchung verschiedener Narkotica qualitative oder quantitative Unterschiede hinsichtlich der antagonistischen Wirkungsstärke nachweisbar sind.

In Anlehnung an die oben zitierten Untersuchungen haben wir zunächst unsere Versuche derart angeordnet, daß die Zufuhr der Narkotica zeitlich so lange vor der Reinjektion des Serums erfolgte, daß im eigentlichen Anaphylaxieversuch die volle Narkoticumwirkung vorhanden war. Als Narkotica wählten wir Substanzen, deren Wirkungsmechanismus auf den

[7] Anderson u. Schulz: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **7**, 32 (1909). — [8] Besredka: C. r. Soc. Biol. **45**, 478 (1908). — [9] Besredka: Ann. Inst. Pasteur, Par. **22**, 496 (1908). — [10] Thomson: Z. Immunit.forsch. **36**, 213 (1917). — [11] Kopaczewski, Roffo u. Roffo: C. r. Acad. Sci. **152**, 1409 (1920). — [12] Delbot u. Palios: Bull. Acad. Méd. **117**, 96 (1937).

anaphylaktischen Schock bisher noch nicht untersucht wurde und zwar 2 Barbitursäurederivate (Veronal [Diäthylbarbitursäure] und Pernocton [Butyl-bromallylbarbitursäure]) und Avertin (Tribromäthylalkohol).

Weiterhin wurden einige Versuchsreihen durchgeführt, in denen die Narkoticumgabe erst nach der Reinjektion des Serums erfolgte. Diese Versuche sollten zeigen, wie weit es möglich ist, eine einmal eingetretene anaphylaktische Reaktion durch Zufuhr eines Narkoticums abzuschwächen. Es lag auf der Hand, daß hierzu nur sehr schnell wirkende Pharmaka aus der Gruppe der Basisnarkotica benutzt werden konnten. Wir benutzten das Eunarcon (N-Methyl-C · C · isopropyl-bromäthylbarbitursäure) und Pernocton, die in diesen Fällen intravenös zugeführt wurden.

Abschließend haben wir in einigen Versuchsreihen untersucht, in welcher Weise die anaphylaktische Reaktion durch Analeptica vom Typus des Cardiazols (Pentamethylentetrazol) beeinflußt wird. Die antagonistische Beeinflussung der Narkose durch Analeptica, auf der die Weckwirkung dieser Pharmaka beruht, ist heute allgemein bekannt (Literatur bei Kochmann[13] und Hildebrandt[14]). Aus Gründen, auf die wir weiter unten noch eingehen werden, war es nun von größerem Interesse zu untersuchen, in welcher Weise der AS durch derartige Krampfgifte beeinflußt wird.

II. Methode.

Für die Untersuchungen verwendeten wir weiße Mäuse im Gewicht zwischen 20 und 25 g. In den einzelnen Versuchsserien wurden jeweils gleichgroße Gruppen mit Tieren möglichst gleichen Alters und annähernd gleichen Gewichts zusammengestellt. Die Tiere wurden mit Mischfutter und Brot ernährt. Durch laufende Gewichtskontrollen wurde der einwandfreie Zustand des Tiermaterials laufend geprüft. Tiere mit inkonstanter Gewichtskurve wurden nicht im Versuch verwendet.

Zur Sensibilisierung der Tiere verwendeten wir frisches Pferdeserum. Die Tiere erhielten intraperitoneal am ersten Tage 0,4 ccm, nach 3 Tagen 0,3 ccm Serum. Nach einer darauf folgenden Ruhezeit von 19 Tagen beobachteten wir nach intravenöser Reinjektion von Serum eine gleichmäßige und gute Anaphylaxiebereitschaft. Für die Auslösung des AS wurde in den Versuchen mit Narkotica eine übertödliche Antigendosis gewählt, die i. v. in die Schwanzvene appliziert wurde. Wir verwendeten als Test für den therapeutischen Erfolg der Vorbehandlung der Tiere im Einklang mit den Forderungen von Dörr und Russ[15] Tod bzw. Überleben der Tiere. Neben diesen scharfen Kriterien haben wir nach dem Vorgehen von Haag und seinen Mitarbeitern[16] die Intensität der jeweils erfolgten anaphylaktischen Reaktion in Form einer Schockzahl protokolliert. Folgende Werte wurden dafür verwendet:

Tödlicher Schock	3
Schwerer Schock, Tier überlebt	2
Typischer klonischer Anfall	1
Kein Schock	0

[13] Kochmann: Heffters Handb. E, II., S. 126, 137, 173. — [14] Hildebrandt: Ebenda E, V., S. 160. — [15] Dörr u. Russ: Z. Immunit.forsch. **2**, 109 (1909). — [16] Haag, Kühne, Hucke u. Körchenhausen: Z. Immunit.forsch. **88**, 129 (1936).

Aus den einzelnen Schockzahlen wurde das Mittel errechnet. Diese mittlere Schockzahl erscheint in den Tabellen der Anaphylaxieversuche und gibt Aufschluß über das Ausmaß der beobachteten anaphylaktischen Reaktion.

Die Zufuhr der Narkotica erfolgte in wässeriger (1—2%iger) Lösung in den ersten 3 Versuchsreihen subcutan unter die Rückenhaut, in den Versuchen mit Basisnarkotica intravenös in die Schwanzvene. Die Narkosetiefe wurde nach dem Girndtschen Schema der Narkosestadien[17] angegeben.

Um nach Möglichkeit alle Faktoren auszuschalten, die zu einer Beeinflussung der anaphylaktischen Reaktion führen könnten, haben wir die Versuche stets unter möglichst gleichmäßigen klimatischen Bedingungen zur gleichen Tageszeit und an einem Tag mit möglichst konstantem Luftdruck[18] durchgeführt.

III. Statistische Auswertung.

Wir haben die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen einer statistischen Auswertung unterzogen. Es galt hierbei festzustellen, ob in den Anaphylaxieversuchen nach Vorbehandlung der Tiere jeweils eine statistisch signifikante Anzahl von Tieren bei Vergleich mit der Mortalität nicht gegenbehandelter gerettet wurde. Es war also die in unseren Kontrollversuchen ermittelte Mortalität (Tabelle 1) nach der Zufuhr einer übertödlichen Serumgabe (0,4 ccm) am nicht narkotisierten, sensibilisierten Tier mit den nach verschiedenen Narkoticumgaben ermittelten Mortalitätsziffern statistisch miteinander zu vergleichen.

Für die Berechnung benutzten wir die χ^2-Methode[19]. Hierbei gelten folgende Beziehungen:

$$\chi^2 = \frac{\left(\frac{a}{a+b} - \frac{c}{c+d}\right)^2 \cdot (a+b)\ (c+d)\ (a+b+c+d)}{(a+c)\ (b+d)}.$$

Hierin sind:

a = Anzahl der getöteten Tiere in der Kontrollversuchsreihe.
b = Anzahl der überlebenden Tiere in der Kontrollversuchsreihe.
c = Anzahl der getöteten Tiere in der jeweils zum Vergleich herangezogenen Versuchsreihe mit einer bestimmten Narkoticumdosis.
d = Anzahl der überlebenden Tiere dieser Versuchsreihe.

(Als Kontrollversuchsreihe gilt die mit 0,4 ccm Serum mit einer Mortalität von 100%, siehe Tabelle 1.)

Da in unserem Fall die Gesamtzahl der in den zu vergleichenden Versuchen verwendeten Tiere gleich ist (je 10 Tiere), vereinfacht sich der Ausdruck für χ^2 zu:

$$\chi^2 = \frac{2n\ (a-c)^2}{(a+c)\ (b+d)}.$$

worin n die Gesamtzahl der Tiere, in unserem Fall 10 ist.

Für die Berechnung unserer Versuche mit Narkotica, in denen die Kontrollversuchsreihe eine 100%ige Mortalität ergab, vereinfacht sich Formel weiter zu dem Ausdruck

$$\chi^2 = \frac{2n\ (a-c)^2}{(a+c)\ d}.$$

[17] Girndt: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **164**, 118 (1932). — [18] Haag: Klin. Wschr. **1933**, S. 1091. — [19] Fisher: Stat. Methods f. Research workers, S. 89. Edinbourgh 1932.

Es gelten nun folgende Sicherheitsgrenzen:

$\chi^2 = 4$ Sicherheitsgrenze 95%
$\chi^2 = 5{,}3$ 98%
$\chi^2 = 6{,}6$ 99%
$\chi^2 = 9$ 99,7%

Je größer χ^2 bei Vergleich zweier Versuchsreihen, um so sicherer ist die beobachtete Differenz der Mortalitätsziffern signifikant. Bei einem $\chi^2 < 4$ und damit einer Sicherheitsgrenze von $< 95\%$ darf ein statistisch gesichertes Ergebnis nicht mehr angenommen werden.

IV. Versuchsergebnisse.

1. Bestimmung der tödlichen Antigendosis.

In einer ersten Versuchsreihe wurde die zur Auslösung eines tödlichen Schocks notwendige Antigendosis 21 Tage nach der ersten Seruminjektion bestimmt. Die Dosierung des Antigens erfolgte hierbei nicht nach dem Körpergewicht (Dörr[20]). Die Ergebnisse der Versuche sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Die Antigengabe erfolgte intravenös.

Tabelle 1. Mortalität aktiv sensibilisierter Mäuse nach i. v. Reinjektion verschiedener Serumgaben.

Antigendosis ccm	Zahl der Tiere	Mortalität absolut	Mortalität relativ %	Mittlere Schockzahl
0,01	4	0	0	0
0,05	4	0	0	1
0,08	4	1	25	1,7
0,1	10	5	50	2,5
0,15	6	3	50	2,5
0,2	6	5	83	2,6
0,3	6	6	100	3
0,4	10	10	100	3
0,5	4	4	100	3

Der der Reinjektion folgende Schock wurde eingeleitet durch Unruhe der Tiere, die etwa 2—3 Min. nach der Antigengabe begann. Nach etwa 5—7 Min. waren deutliche Zeichen von Dyspnoe erkennbar und es traten tonisch-klonische Krämpfe auf, die von Lähmungsstadien unterbrochen waren. Der Tod erfolgte im allgemeinen zwischen 12 und 30 Min. nach der Injektion. Wir beobachteten aber auch Todesfälle nach 4 Min. und nach > 2 Stunden. In Übereinstimmung mit Beobachtungen von Schiemann und Meyer[21] und Ritz[22] sahen wir bei der Sektion der Tiere auffällig oft Hyperämie von Milz und Leber und fast regelmäßig Lungenemphysem.

Wir ersehen aus der Tabelle 1, daß die zu einem tödlichen Schock führende Serumgabe zwischen 0,2 und 0.3 ccm liegt. Die Dosis 0,4 ccm kann als übertödliche Dosis bezeichnet werden. Diese Gabe verwendeten wir für unsere weiteren Versuche mit Narkotica.

---

[20] Dörr: Bethe-Bergmann Hdb. **13**, 650. — [21] Schiemann u. Meyer: Z. Hyg. **106**, 607 (1926). — [22] Ritz: Z. Immunit.forsch. **9**, 321 (1911).

Aus Gründen, auf die wir noch zurückkommen werden, erschien es von Interesse, auch Untersuchungen an Tieren durchzuführen, bei denen ein protahierter Schock erzeugt worden war. Wir konnten einen derartigen Schock an unserem Tiermaterial sehr gut durch intraperitoneale Reinjektion von Serum am aktiv sensibilisierten Tier erzielen. Über die hierbei mit verschiedenen Antigendosen beobachtete Mortalität und Schockstärke gibt Tabelle 2 Aufschluß.

Tabelle 2. Mortalität und Schockstärke nach intraperitonealer Reinjektion von Serum (Maus).

Antigendosis ccm	Zahl der Tiere	Mortalität absolut	Mortalität relativ %	Mittlere Schockzahl
0,5	4	0	0	1
0,8	6	2	33	1
1,0	10	5	50	1
1,5	16	8	50	1,7

Der Schock trat in diesen Versuchen erst nach 15—20 Min. ein und hielt etwa 60—80 Min. an. Es kam hierbei nur selten zu tonisch-klonischen Krämpfen. Die Tiere lagen in Seitenlage bei erhaltenen Reflexen mit etwas schnappender Atmung. Der Exitus trat nach 1,9 und 1,5 ccm zwischen 60 und 140 Min. nach der i. p. Reinjektion ein, 2 Tiere starben nach 1,5 ccm bereits nach 35 und 45 Minuten.

2. Versuche mit Veronal.

Zunächst wurde die Wirkung des Veronals an unserem Tiermaterial geprüft. Wie bereits oben erwähnt, wurden die Narkosestadien nach Girndt mit I—VI bezeichnet. Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle 3 zusammengestellt.

Tabelle 3.
Mortalität und Narkosestadien nach subcutaner Veronalgabe (Maus).

Dosis Veronal mg/20 g	Zahl der Tiere	Mortalität absolut	Mortalität relativ %	Narkose-stadien
2	5	0	0	I—II
3	6	0	0	II—III
5	6	0	0	III—IV
6	6	0	0	IV—V
7	6	1	17	V—VI
9	6	5	83	VI

Die narkotische Wirkung trat etwa 30 Min. nach der Injektion ein. Sie hielt nach der Zufuhr von 6—7 mg/20 g etwa 8—10 Stunden an. Als Seitenlagendosis (SLD) wurden 6 mg/20 g angenommen. Die tödliche Dosis (D. l.) liegt bei etwa 9 mg/20 g.

Im Anaphylaxieversuch erfolgte die Antigengabe 70 Min. nach der Injektion des Veronals, also zu einem Zeitpunkt, in dem die volle narkotische

Wirkung nachweisbar war. Es gelangten 0,4 ccm Serum zur Injektion. Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle 4 zusammengestellt.

Tabelle 4.
Anaphylaktischer Schock nach Vorbehandlung mit Veronal (Maus).

Dosis Veronal mg/20 g	Zahl der Tiere	Mortalität absolut	Mortalität relativ %	Mittlere Schockzahl	χ^2
2	10	8	80	2,7	2,2
3	10	6	60	2,3	5,0
5	10	4	40	1,7	8,6
6	10	2	20	1,5	15,9
7	10	3	30	1,4	10,8

Bereits nach geringen Veronaldosen (2—3 mg/20 g) war die Intensität des Schocks bei dem größeren Teil der Tiere deutlich vermindert. Diese Abschwächung der Schockintensität war besonders deutlich nach der SLD und höheren Dosierungen. Hier beobachteten wir nur bei je 2 Tieren den typischen AS mit tonisch-klonischen Krämpfen. Bei den übrigen Tieren verlief der Schock mehr im Bilde des protrahierten Anfalls. Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß die Mortalität der Tiere mit steigender Narkoticumdosis abnimmt. Während die Verminderung der Mortalität nach der Zufuhr von 2 mg/20 g nur gering ist, wird sie nach der SLD auf 20 % herabgedrückt. Die weitere Steigerung der Veronaldosis führt zu einer geringen Erhöhung der Mortalität. Im gleichen Maße, in dem die Mortalität durch die Narkoticumwirkung herabgesetzt wurde, verlief die Verminderung der Schockintensität, wie aus den mittleren Schockzahlen der Tabelle zu entnehmen ist. Interessanterweise wird diese bei der Steigerung der Veronaldosis von 6 auf 7 mg/20 g weiter erniedrigt, obwohl die Mortalität in diesem Dosierungsbereich wieder im Ansteigen begriffen ist. Hier kamen mehrere Tiere in tiefster Narkose zum Exitus, die gar keine Anzeichen für das Bestehen einer anaphylaktischen Reaktion boten. Der Tod dürfte in diesen Fällen wohl in erster Linie durch die toxische Wirkung der hohen Narkoticumgabe bedingt gewesen sein.

Bemerkenswert erscheint uns weiterhin die Tatsache, daß auch nach relativ geringen Veronaldosen eine Abschwächung des AS zu beobachten war. Wir kommen auf diese Beobachtung noch zurück.

Die statistische Berechnung ergibt, daß bereits nach Vorbehandlung mit 3 mg/20 g Veronal ein statistisch gesicherter Unterschied gegenüber dem Kontrollversuch bei Vergleich der Mortalitäten besteht. Nach 5 mg/20 g steigt χ^2 auf 99 %. Das χ^2 im Versuch mit 6 mg/20 g Veronal besagt, daß die beobachtete Verminderung der Mortalität statistisch weitgehend gesichert ist. Somit ließ sich also in diesen Versuchen eine schockhemmende Wirkung des Veronals nachweisen. Das Optimum der antagonistischen Wirkung liegt bei relativ hohen Narkoticumgaben (SLD). Hervorzuheben

ist, daß aber auch bereits Unterseitenlagendosen eine Verminderung der Mortalität hervorrufen.

3. Versuche mit Pernocton.

In weiteren Versuchsreihen wurde Pernocton verwendet. Wir bringen zunächst in Tabelle 5 eine Zusammenstellung der Wirkung subcutaner

Tabelle 5.
Mortalität und Narkosestadien nach subcutaner Pernoctongabe (Maus).

Dosis Pernocton mg/20 g	Zahl der Tiere	Mortalität absolut	Mortalität relativ %	Narkose-stadien
0,6	4	0	0	I—II
1,0	4	0	0	III
1,2	4	0	0	III—IV
1,4	5	0	0	IV—V
1,8	6	0	0	V
2,2	6	1	16	V—VI
2,5	5	4	80	VI
3,0	4	4	100	VI

Gaben von Pernocton auf unser Tiermaterial. Die narkotische Wirkung trat 15—25 Min. nach der Injektion des Pernoctons ein. Nach 1,8 mg/20 g hielt die SL etwa 6 Stunden an. Die SLD liegt bei 1,4 mg/20 g, die D. l. bei etwa 2,5 mg/20 g.

In den folgenden Anaphylaxieversuchen erfolgte die Zufuhr des Antigens 35 Min. nach der Injektion des Pernoctons. Die Ergebnisse der Versuche sind in Tabelle 6 zusammengestellt. In den Versuchen mit Pernocton sahen wir im wesentlichen das gleiche Bild wie wir es nach

Tabelle 6.
Anaphylaktischer Schock nach Vorbehandlung mit Pernocton (Maus).

Dosis Pernocton mg/20 g	Zahl der Tiere	Mortalität absolut	Mortalität relativ %	Mittlere Schockzahl	χ^2
0,6	10	8	80	2,7	2,2
1,0	10	6	60	2,4	5,7
1,4	10	5	50	2,3	6,7
1,8	10	3	30	1,6	10,8
2,2	10	3	30	1,3	10,8

Vorbehandlung der Tiere mit Veronal beobachten konnten. Es kommt nach der Narkoticumzufuhr zu einer deutlichen Abschwächung der anaphylaktischen Reaktion. Das Optimum der antagonistischen Wirkung liegt hier ebenfalls bei relativ hohen Narkoticumgaben. Nach unseren Versuchen führt die SLD noch nicht wie bei den Veronalversuchen zu einer maximalen Erniedrigung der Mortalität, sondern erst nach einer weiteren Steigerung der Gaben auf Überseitenlagendosen sinkt die Mor-

talität auf tiefste Werte ab. Auch hier wurde die Schockintensität deutlich vermindert. Die mittlere Schockzahl sinkt kontinuierlich mit ansteigender Narkoticumdosis ab. Besonders auffällig war, daß nach 2,2 mg/20 g nur 1 Tier mit einem starken tödlichen Schock reagierte. 2 Tiere starben ohne Zeichen einer anaphylaktischen Reaktion. Die für den AS so charakteristischen tonisch-klonischen Krämpfe waren deutlich abgeschwächt. Auch Gaben, die unter der SLD liegen, führten zu einer Verminderung der Mortalität und Verkleinerung der Schockzahl.

Bei statistischer Berechnung erweist sich lediglich die Mortalitätsverminderung nach 0,6 mg/20 g Pernocton als nicht signifikant. Alle anderen Versuchsreihen weisen eine statistisch reelle Verminderung der Anzahl der getöteten Tiere aus. Danach läßt sich die schockhemmende Wirkung auch an diesem Barbitursäurederivat nachweisen.

4. Versuche mit Avertin.

Wir berichten weiter über Versuche mit Avertin. Die Wirkung subcutaner Gaben von Avertin ist in Tabelle 7 zusammengestellt.

Tabelle 7. Mortalität und Narkosestadien nach subcutaner Zufuhr von Avertin (Maus).

Dosis Avertin mg/20 g	Zahl der Tiere	Mortalität absolut	Mortalität relativ %	Narkosestadien
2	6	0	0	II
4	6	0	0	II—III
6	6	1	17	IV
7	6	0	0	IV—V
8	6	1	17	V
10	6	4	66	V
12	4	4	100	V—VI
15	4	4	100	VI

Die narkotische Wirkung wurde hier bereits 5—10 Min. nach der Zufuhr des Avertins beobachtet. Die SLD liegt bei etwa 7 mg/20 g. Bei 6 mg/20 g verloren wir 1 Tier durch Atemlähmung. Die D. l. beträgt etwa 12 mg/20 g.

Die Injektion des Antigens in den folgenden Anaphylaxieversuchen erfolgte 20 Min. nach der Narkoticumgabe. Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle 8 zusammengestellt worden. Eine Hemmung des AS durch Vorbehandlung mit Avertin ist deutlich nachweisbar. Sie steht in Übereinstimmung mit den Ergebnissen unserer Versuche mit Veronal und Pernocton. Die Mortalität wird nicht in gleichem Maße vermindert, wie wir es in unseren Veronalversuchen sahen, sie ist aber ebenfalls ausgeprägt. Auffällig ist auch hier die Verkleinerung der mittleren Schockzahl nach hohen Narkoticumgaben. Nach 7 und 8 mg/20 g starben je 2 Tiere ohne Zeichen eines AS. Bei statistischer Berechnung erweist sich die Verminderung der Mortalität bereits von 4 mg/20 g an als signifikant. Danach kommt also auch dem Avertin eine ausgeprägte schockhemmende Wirkung zu.

Tabelle 8.
Anaphylaktischer Schock nach Vorbehandlung mit Avertin (Maus).

Dosis Avertin mg/20 g	Zahl der Tiere	Mortalität absolut	Mortalität relativ %	Mittlere Schockzahl	χ^2
2	10	9	90	2,8	1,8
4	5	3	60	2,3	—
6	10	4	40	2,2	2,2
7	10	4	40	2,2	2,2
8	10	3	30	1,3!	10,8

Das Avertin ist bekanntlich ein ausgezeichnetes Basisnarkoticum, das am Menschen nach rektaler und i. v. Zufuhr zum schnellen Eintritt einer Narkose führt. Es müßte also möglich sein, durch Einleiten einer rektalen bzw. i. v. Narkose sofort nach dem Auftreten der ersten Zeichen eines AS die schweren Erscheinungen zu mildern und tödliche Reaktionen zu verhindern. Zur näheren Untersuchung dieser Frage haben wir weiterhin einige Versuchsreihen mit Basisnarkotica durchgeführt.

5. Versuche mit Eunarcon.

Bei den folgenden Versuchen erfolgte die Zufuhr der Basisnarkotica durch intravenöse Injektion in die Schwanzvene. Die Anordnung der Versuche war hierbei derart, daß zunächst die Reinjektion des Antigens erfolgte und erst im Anschluß daran die Narkoticumgabe. Die narkotische Wirkung tritt bei Eunarcon unmittelbar nach bzw. während der Injektion ein. Die Dauer der Narkose belief sich im Mittel auf 15 Min.

Wir haben zunächst die Wirkung verschiedener Eunarcongaben auf unser Tiermaterial studiert. Die Ergebnisse sind in Tabelle 9 zusammengestellt. Die SLD liegt bei etwa 0,65 mg/20 g, sie hält nur wenige Minuten an. Eine länger dauernde Narkose wurde nach 0,8 mg/20 g erzielt. Die D. l. liegt bei etwa 1,2 mg/20 g.

Tabelle 9.
Mortalität und Narkosestadien nach Eunarcon i. v. (Maus).

Dosis Eunarcon mg/20 g	Zahl der Tiere	Mortalität absolut	Mortalität relativ %	Narkosestadien	Bemerkungen
0,2	6	0	0	I	—
0,4	4	0	0	I—II	—
0,5	4	0	0	III	—
0,6	4	0	0	IV	Kurz SL
0,66	4	0	0	IV—V	—
0,7	6	0	0	IV—V	SL, Refl. (+)
0,8	6	1	17	V	R ∅
1,0	6	2	33	V—VI	R ∅
1,2	6	6	100	VI	R ∅

Die Ergebnisse der Anaphylaxieversuche sind in Tabelle 10 zusammengestellt. Auch hier ließ sich eine antagonistische Beeinflussung des AS

Tabelle 10. Anaphylaktischer Schock. Gegeninjektion von Eunarcon i. v. nach der Zufuhr des Antigens (Maus).

Dosis Eunarcon mg/20 g	Zahl der Tiere	Mortalität absolut	Mortalität relativ %	Mittlere Schockzahl	χ^2
0,2	10	10	100	3,0	—
0,4	6	5	85	2,7	—
0,6	10	8	80	2,6	2,2
0,8	6	4	60	2,2	—
1,0	10	6	60	2,1	5,0

nachweisen. Die Gegenwirkung war allerdings nicht so ausgeprägt wie in unseren früheren Versuchen (χ^2 im günstigsten Fall 5,0 mit einer Sicherheitsgrenze von 95 %). Die Intensität des Schocks war aber nach Zufuhr der SLD und höheren Gaben vermindert, wie die mittleren Schockzahlen der Tabelle ausweisen.

6. Versuche mit Pernocton.

Wir haben in gleicher Anordnung einige Versuchsreihen mit Pernocton durchgeführt, das in diesem Fall ebenfalls i. v. nach der Reinjektion des Serums zugeführt wurde. Die Wirkung verschiedener i. v. Pernoctongaben an unserem Tiermaterial wurde zunächst wieder in einem Vorversuch studiert (Tabelle 11).

Tabelle 11.
Mortalität und Narkosestadien nach Pernocton i. v. (Maus).

Dosis Pernocton mg/20 g	Zahl der Tiere	Mortalität absolut	Mortalität relativ %	Narkosestadien	Bemerkungen
0,2—1,0	30	0	0	0—I	Torkeln
1,2	10	0	0	III	—
1,6	10	1	10	IV—V	—
2,0	6	2	33	V	Refl. ∅
2,4	6	4	67	V—VI	—
3,0	4	4	100	VI	—
4,0	3	3	100	VI	—

Die SLD liegt bei 1,6 mg/20 g, die D. l. zwischen 2,4 und 3,0 mg/20 g.

Die Ergebnisse der Anaphylaxieversuche, bei denen die Narkoticumgabe unmittelbar nach der Seruminjektion erfolgte, sind in Tabelle 12 zusammengestellt.

Auch hier konnten wir eine schockhemmende Wirkung beobachten. Die Intensität der anaphylaktischen Reaktion wurde durch die Zufuhr des Narkoticums vermindert. Auch die Mortalität wurde herabgesetzt, allerdings nicht in gleichem Maße, wie wir es in den Versuchen sahen, in

Tabelle 12. Anaphylaktischer Schock. Gegeninjektion von Pernocton i. v. nach der Zufuhr des Antigens (Maus).

Dosis Pernocton mg/20 g	Zahl der Tiere	Mortalität absolut	Mortalität relativ %	Mittlere Schockzahl	χ^2
1,2	10	8	80	2,8	2,2
1,6	10	6	60	2,4	5,0
2,0	10	5	50	2,0	6,7

denen die Narkoticumgabe vor der Seruminjektion erfolgte. Für eine statistisch signifikante Beeinflussung der Mortalität war mindestens die SLD des Narkoticums notwendig. Das Ausmaß der antagonistischen Beeinflussung des AS entsprach etwa der nach Eunarcon i. v.

Danach ließ sich in den vorliegenden Untersuchungen zeigen, daß eine Abschwächung der anaphylaktischen Reaktion möglich ist, wenn die Zufuhr des Narkoticums erst nach der Injektion des Antigens erfolgt. Der antagonistische Effekt ist, wie sich in beiden Versuchsreihen zeigen ließ, nicht so ausgeprägt, wie in den Fällen, in denen die Narkoticumgabe vor der Reinjektion des Serums erfolgte. Dies kommt sowohl in der zahlenmäßig geringeren Verminderung der Mortalität, als auch in der geringeren Verkleinerung der mittleren Schockzahl zum Ausdruck.

Die Antigen-Antikörper-Reaktion des AS tritt bei i. v. Reinjektion zweifellos sofort nach dem Einströmen des Serums in die Blutbahn des sensibilisierten Tieres ein. So wird die Gegenwirkung des Narkoticums, wenn dessen Zufuhr zeitlich nach der Antigengabe erfolgt, erst einsetzen, wenn der AS bereits in Gang gekommen ist. Welcher Art der Hemmungsmechanismus nun auch sein mag, die antagonistische Wirkung einer solchen Gegenbehandlung muß in diesem Fall ungünstiger als in den Versuchen sein, in denen die Narkoticumzufuhr vor der Serumreinjektion erfolgte.

Eine gewisse praktische Bedeutung gewinnen unsere Versuche mit Basisnarkotica, wenn man in Betracht zieht, daß in unseren Versuchsreihen mit einer übertödlichen Antigendosis gearbeitet wurde. Wir können annehmen, daß die am Menschen auftretenden Fälle von AS nur sehr selten auf Grund der Wirkung einer derartig hohen Antigendosierung zustande kommen. In der Praxis wird der AS wohl in weitaus den meisten Fällen durch bedeutend geringere Antigenmengen ausgelöst werden. Daß aber die Gegenwirkung i. v. nach der Reinjektion zugeführter Basisnarkotica bei geringeren (i. v. zugeführten) Antigendosen eine ausgezeichnete ist, zeigten uns 2 orientierende Versuchsreihen, in denen jeweils 5 sensibilisierte Tiere 0,2 ccm Serum (einfach tödliche Antigendosis) erhielten. Im Kontrollversuch (Tabelle 1) beobachteten wir bei dieser Antigendosierung bei 6 Tieren eine 100%ige Mortalität. Durch Eunarconzufuhr unmittelbar nach der Serumreinjektion (0,7 in der ersten, 0,8 mg/20 g in der zweiten Versuchsreihe) konnten wir von je 5 Tieren alle retten. Die mittlere Schockzahl war für beide Versuche 1,9. Dieses Versuchsergebnis deutet

also darauf hin, daß der Behandlung des AS mit Basisnarkotica in der Praxis eine gewisse Bedeutung zukommen dürfte.

Bei dieser Gelegenheit sei erwähnt, daß wir einige Versuche in der gleichen Anordnung unter rektaler Zufuhr von Avertin an der Maus durchführten (SLD 0,3 mg/20 g[23]). Auch hier beobachteten wir eine gute Schockhemmung. Da es uns leider nicht gelungen ist mit Sicherheit eine genau dosierte Narkoticummenge rektal ohne Verlust zu infundieren, verzichten wir vorläufig auf die Wiedergabe der entsprechenden Protokolle.

V. Weitere Untersuchungsergebnisse.

1. In Erweiterung der vorliegenden Untersuchungsergebnisse war es von Bedeutung, zu prüfen, in welcher Weise der protrahierte AS durch Zufuhr von Narkotica beeinflußt wird. Der „akute Schock", wie er durch i. v. Zufuhr des Antigens hervorgerufen wird, stellt zweifellos die schwerste Form der anaphylaktischen Reaktion überhaupt dar. Durch intraperitoneale Reinjektion des Serums gelingt es bekanntlich, eine bedeutend mildere Verlaufsform des AS hervorzurufen, die dem Erscheinungsbild, wie wir es am Menschen beobachten, am nächsten kommt.

Es wurden deshalb einige Versuchsreihen mit dem sogenannten protrahierten Schock durchgeführt. Für diese Versuche verwendeten wir jeweils die SLD der beiden Barbitursäurederivate, die subcutan 25 Min. vor der Reinjektion des Serums appliziert wurde. Die Ergebnisse der Versuche sind in Tabelle 13 zusammengestellt. Es gelangten hierbei 1,0 ccm Serum intraperitoneal zur Injektion. Bei dieser Dosierung starben im Kontrollversuch 5 von 10 Tieren (vgl. Tabelle 2). Bei beiden Versuchsreihen war eine Schockhemmung nachweisbar. Die Tiere lagen während des Versuchs in tiefer Narkose und zeigten keine Zeichen einer anaphylaktischen Reaktion.

Tabelle 13. Anaphylaktischer Schock (protr.) nach subcutaner Zufuhr von Veronal und Pernocton (Maus). Antigen Dos. 1,0 ccm i. p.

Narkoticum	Dosis mg/20 g	Zahl der Tiere	Mortalität absolut	Mortalität relativ %	χ^2
Veronal	6	10	1	10	3,6
Pernocton	1,8	10	2	20	0,8

Es war nun weiterhin im protrahierten Schockversuch zu untersuchen, wie die Gegenwirkung eines Narkoticums ist, wenn dessen Zufuhr erst nach der intraperitonealen Antigeninjektion erfolgt. Zu diesem Zweck erhielten 5 sensibilisierte Tiere unmittelbar nach der intraperitonealen Reinjektion von 0,2 ccm Serum die SLD Veronal subcutan. Hierbei starben 2 Tiere im protrahierten Schock. Von 4 Tieren, denen bei gleicher

[23] Eichholtz: Dtsch. med. Wschr. **1927**, S. 710.

Versuchsanordnung, die SLD Veronal i. v. zugeführt wurde, kamen 2 Tiere zum Exitus. Diese Versuche zeigten zunächst, daß für das Zustandekommen einer schockhemmenden Wirkung offensichtlich die narkotische Wirkung notwendig ist. Diese tritt aber sowohl nach subcutaner wie auch intravenöser Zufuhr von Veronal infolge der geringen Geschwindigkeit mit der die Barbitursäure im Blute abdissoziiert[24], erst nach einer Latenzzeit von 25—30 Min. ein. In dieser Zeit ist aber auch bei dem protrahierten Schock der Mechanismus der anaphylaktischen Reaktion in Gang gekommen.

Auf der anderen Seite erwies sich aber auch die i. v. Zufuhr der SLD eines Basisnarkoticums (Eunarcon) unmittelbar nach der intraperitonealen Serumreinjektion als ungenügend wirksam. (Es starben hierbei 3 von 5 Tieren bei sonst gleicher Versuchsanordnung.) Hier hält die Narkose, wie wir schon weiter oben beschrieben haben, nur etwa 15—20 Minuten an. Die anaphylaktische Reaktion verläuft aber im protrahierten Schock während eines Zeitraumes von 1—2 Stunden. Während der relativ schnell verlaufende Schock nach i. v. Reinjektion des Serums durch die SLD Eunarcon (i. v. zugeführt) ausreichend antagonisiert wurde, war eine derartige Wirkung bei dem protrahierten Schock nicht nachweisbar. Auch dieses Versuchsergebnis deutet zunächst darauf hin, daß für eine Schockhemmung die volle narkotische Wirkung notwendig ist.

Es war hiernach naheliegend, zu versuchen, den protrahierten Schock durch ein Narkoticum zu beeinflussen, dessen Wirkung genügend schnell eintritt und länger anhält. Tatsächlich gelingt dies ausgezeichnet mit Avertin, dessen Wirkung etwa 5—10 Minuten nach der subcutanen Gabe beginnt, also ungefähr zum gleichen Zeitpunkt, in dem sich nach intraperitonealer Serumreinjektion die ersten Zeichen einer anaphylaktischen Reaktion am sensibilisierten Tier bemerkbar machen. In diesen Versuchsreihen, in denen im Anschluß an die Reinjektion (i. p.) subcutan die SLD Avertin zugeführt wurde, überlebten von 5 Tieren alle.

2. Auf Grund der bisher vorliegenden Versuchsergebnisse können wir herausstellen, daß es durch Zufuhr von Narkotica zu einer Hemmung des AS kommt, wenn bis zum Eintritt der ersten anaphylaktischen Reaktion sich eine narkotische Wirkung ausgebildet hat. Welcher Mechanismus liegt nun der hemmenden Wirkung zugrunde? Bekanntlich gibt es eine ganze Reihe von Theorien für die Erklärung der schockhemmenden Wirkung der Narkotica. Änderungen der Viskosität, der Oberflächenspannung, der Kolloidstruktur des Blutes, Blockierung des reticulo-endothelialen Systems und andere Vorgänge sind für diese Erklärungen herangezogen worden (Literatur bei Berger und Hansen[25]). Die größte Bedeutung dürfte neben der alten „neurogenen Theorie der Schockhemmung", die von Besredka[2] und

[24] Klimesch: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **172**, 10 (1933). — [25] Berger u. Hansen: Allergie. Berlin 1940.

Richet[26] verfochten wurde, der Erklärung zukommen, die Dale[27] zunächst für das Zustandekommen des AS gab und die es auch gestattet, die schockhemmende Wirkung der Narkotica zu erklären. Danach kommt es unter der Antigen-Antikörper-Reaktion zu einer Freisetzung von Histamin bzw. histaminähnlichen Substanzen, die nun ihrerseits zur Auslösung der Symptome des AS führen. Eine ganze Reihe von Untersuchern konnte zeigen, daß der Tod im AS durch einen intensiven Krampf der Bronchialmuskulatur als Folge der Wirkung der histaminähnlichen Substanzen und einer daraus resultierenden Immobilisierung der Lunge erfolgt[28–32]. Es ist nun bekannt, daß viele Narkotica die glatte Muskulatur insbesondere die der Bronchien reversibel lähmen[33]. Farmer[34] konnte zeigen, daß am isolierten Uterus die anaphylaktische Reaktion (Schultz-Dale-Technik[35]) durch verschiedene Narkotica gehemmt wird. Nun kommt auch den von uns untersuchten Barbitursäurederivaten eine reversibel lähmende Wirkung auf die glatte Muskulatur zu (wir verweisen in diesem Zusammenhang auf die umfangreiche Literatur bei Kochmann[36]). In gleicher Weise fanden auch Waddel[37] und Barlow und Mitarbeiter[38] bei der Untersuchung des Avertins eine reversibel lähmende Wirkung auf die glatte Muskulatur. Ob der Angriffspunkt der Wirkung hierbei in den vegetativen Nerven der glattmuskeligen Organe liegt, ist vorläufig noch nicht entschieden[39]. Die nach der Zufuhr von Atropin[40–44] und Adrenalin[7, 45–47] beobachtete Schockhemmung läßt eine solche Wirkung vermuten, ohne sie indessen für die Erklärung des Wirkungsmechanismus unbedingt notwendig erscheinen zu lassen.

Es erscheint uns jedoch notwendig, bei der Erklärung der schockhemmenden Wirkung der Narkotica neben der Beeinflussung der glatten Muskulatur auch an die Mitwirkung zentraler Hemmungsmechanismen zu denken. Wir dürfen annehmen, daß bei dem Ablauf der anaphylaktischen Reaktion gewisse zentrale Erregungen eine Rolle spielen. Gleichzeitig wissen wir aber, daß zentrale Erregungen durch die Wirkung von Narkotica

[26] Richet: L'Analphylaxie, S. 44. Paris 1923. — [27] Dale: Lacet **1**, 1179, 1233, 1285 (1929). — [28] Auer u. Lewis: J. exper. Med. (Am.) **12**, 151 (1910). — [29] Schultz u. Jordan: J. Pharmacol. (Am.) **2**, 375 (1911.) — [30] Friedberger: Z. Bakteriol. **54**, 71 (1912). — [31] Biedl u. Kraus: Dtsch. med. Wschr. **1911**, S. 1300; Wien. klin. Wschr. **1910**, S. 385. — [32] Löwit: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **73**, 1 (1913). — [33] Kochmann: Heffters Handb. **1**, S. 133. — [34] Farmer: J. Immunol. (Am.) **33**, 9 (1937). — [35] Dale: J. Pharmacol. (Am.) **4**, 167 (1913); Schultz: Ebenda **1**, 549 (1910); **2**, 221 (1911); **3**, 299 (1912). — [36] Kochmann: Heffters Handb. E II, S. 168ff. — [37] Waddel: J. Labor. a. clin. Med. (Am.) **17**, 1104 (1932), zit. nach Kochmann: Heffters Handb. E II, S. 136. — [38] Quigley, Balow u. Himmelsbach: J. Pharmacol. (Am.) **50**, 425 (1934). — [39] Kochmann: Heffters Handb. E II, S. 172ff. — [40] Auer u. Lewis: J. amer. med. ass. **59**, 453 (1909). — [41] Auer: Amer. J. physiol. **26**, 439 (1910). — [42] Biedl u. Kraus: Wien. klin. Wschr. **23**, 386 (1910). — [43] Karsner u. Nutt: J. amer. med. Assoc. **57**, 1023 (1911). — [44] Zunz u. la Barre: C. r. Soc. Biol. **88**, 645 (1933). — [45] Galambos: Z. Immunit.forsch. **19**, 437 (1913). — [46] Pelz u. Jackson: J. Pharmacol. (Am.) **11**, 173 (1918). — [47] Hanzlick u. Karsner: Ebenda **19**, 425 (1920).

antagonistisch beeinflußt werden[48]. Für eine derartige zentrale Beeinflussung des AS spricht der experimentelle Befund, daß in unseren Versuchen die tonisch-klonischen Krämpfe an den Tieren, die unter Narkoticawirkung standen, deutlich abgeschwächt waren, ja in einer ganzen Reihe von Fällen gar nicht in Erscheinung traten. Weiter läßt sich in diesem Sinne auch die Beobachtung verwerten, daß in unseren Versuchen eine gewisse Abhängigkeit der antagonistischen Wirkungsstärke von der zugeführten Narkoticumdosis bestand. Diese verläuft ungefähr parallel den Dosierungen, wie wir sie zur Antagonisierung der Wirkung von Krampfgiften vom Typus des Cardiazols benötigen. Sie stehen dabei weiterhin in auffälliger Übereinstimmung mit Befunden, die wir bei der Untersuchung der entzündungshemmenden Wirkung der Narkotica beobachten konnten[49]. Wir kommen darauf noch weiter unten zurück.

Der Mechanismus der schockhemmenden Wirkung der Narkotica erscheint uns weiterhin einer Klärung zugänglich, wenn wir an die im anaphylaktischen Schock auftretende Veränderung der Permeabilität der Zellgrenzflächen und ihre Beeinflussung durch Narkotica denken. Bekanntlich kommt es beim AS zu einer Steigerung der Permeabilität der Zellgrenzflächen, wie sie von Krauss[50], Rossi[51] u. a. beschrieben wurde. Krauss[52] hat bereits früher darauf hingewiesen, daß permeabilitätsvermindernde Pharmaka geeignet sind, zu einer Schockhemmung zu führen. Die reversible Verminderung der Permeabilität der Zellgrenzflächen unter der Wirkung der Narkotica ist von uns früher in zeitlich fortlaufenden Messungen mit Hilfe einer elektrischen Methode der Permeabilitätsmessung nachgewiesen worden[53], nachdem sie mit Hilfe anderer Verfahren bereits früher beschrieben worden war[54–56]. Da die Verminderung der Permeabilität der Zellgrenzflächen im Bereiche narkotischer Konzentrationen ein Optimum erreicht, ist sie tatsächlich geeignet, eine erste Erklärung für das Zustandekommen einer schockhemmenden Wirkung zu geben. Sie steht hierbei im Einklang mit der gleichen Wirkung des Ca^{++}, dessen permeabilitätsvermindernde Wirkung allgemein bekannt ist. Wie weit die Beeinflussung der Zellgrenzflächenpermeabilität durch Konzentrationen von Narkotica, die gerade zur Ausbildung einer narkotischen Wirkung genügen, zu einer Beeinflussung der anaphylaktischen Reaktion führen, bleibt zunächst weiteren Untersuchungen vorbehalten. Es war aber in diesem Zusammenhang von Interesse, die Beeinflussung des AS durch ein Krampfgift vom Typus des Cardiazols zu untersuchen, für das wir in einem gewissen Dosierungsbereich eine Steigerung der Permeabilität

[48] Kochmann: Heffters Handb. E II. S. 1. — [49] Hofmann: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 87 (1940). — [50] Krauss: Boll. Ist. sieroter. milan. **15**, 759 (1936). — [51] Rossi: Lett. oftalm. **12**, 113 (1935). — [52] Krauss: Boll. Ist. sieroter. milan. **16**, 118 (1937). — [53] Hofmann: Int. Physiol. Kongr. Zürich 1938. — [54] Gellhorn: Permeabilitätsproblem. Leipzig 1933. — [55] Winterstein: Die Narkose. Leipzig 1930. — [56] Höber: Die physikalische Chemie der Zelle. Berlin 1930.

der Zellgrenzflächen nachweisen konnten [53]. Wir haben aus diesem Grunde noch einige abschließende Versuchsreihen mit Cardiazol durchgeführt.

VI. Versuche mit Cardiazol.

In einem Vorversuch wurde die Wirkung subcutan zugeführten Cardiazols an unserem Tiermaterial geprüft. Die Ergebnisse der Versuche sind in Tabelle 14 zusammengestellt. Hiernach wurde die Krampfdosis mit 0,9 mg/20 g, die D. l. bei 1,6 mg/20 g bestimmt.

Tabelle 14.
Mortalität und Krampfdosen nach Cardiazol subcutan (Maus).

Dosis Cardiazol mg/20 g	Zahl der Tiere	Mortalität absolut	Mortalität relativ %	Bemerkungen
0,5	6	0	0	Übererregbar
0,7	4	0	0	Leichte Krämpfe
0,9	6	0	0	Krämpfe bei allen Tieren
1,0	4	1	25	Krämpfe
1,2	5	3	60	„
1,4	5	3	60	Starke Krämpfe
1,6	4	4	100	„ „

Für die Anaphylaxieversuche wählten wir eine Antigendosis, bei der im Kontrollversuch 50 % der Tiere starben (0,1 ccm i. v.). Die Injektion des Cardiazols erfolgte unmittelbar vor der Reinjektion des Serums. Die Ergebnisse der Versuche sind in Tabelle 15 zusammengestellt.

Tabelle 15.
Anaphylaktischer Schock nach Vorbehandlung mit Cardiazol (Maus). Antigen Dos. 0,1 ccm i. v.

Dosis Cardiazol mg/20 g	Zahl der Tiere	Mortalität absolut	Mortalität relativ %	Mittlere Schockzahl	χ^2
0,5	10	4	40	2,1	0,2
0,7	5	3	60	2,5	0,2
0,9	10	8	80	2,7	—
1,0	5	5	100	3,0	—
1,4	5	5	100	3,0	—

Unter der Einwirkung kleiner Cardiazolgaben kam es zunächst zu einer geringen Verminderung der Mortalität. Nach Steigerung der Vorbehandlungsdosis erhöht sich die Mortalität wieder und liegt auf gleicher Höhe wie im Kontrollversuch. Die Intensität des AS erschien in beiden Versuchsreihen gegenüber dem Kontrollversuch (Tabelle 1) gesteigert, was in der mittleren Schockzahl zum Ausdruck kommt. Nach weiterer Erhöhung der Cardiazoldosis wird die Mortalität deutlich gesteigert. In gleicher Weise erhöht sich die mittlere Schockzahl und erreicht bereits nach Vorbehandlung mit 1,0 mg/20 g den maximalen Wert 3, d. h. alle Tiere zeigten in diesen Versuchen die Zeichen eines schweren, tödlich endenden Schocks.

Danach läßt sich herausstellen, daß die anaphylaktische Reaktion durch hohe Gaben von Cardiazol gesteigert wird. Die Abschwächung der Schockintensität, die wenigstens hinsichtlich der Mortalität nach 0,5 mg/20 g Cardiazol zu beobachten war, könnte zunächst mit einer bronchodilatatorischen Wirkung in Zusammenhang gebracht werden, wie sie von Warnant[57] nach der Zufuhr von Cardiazol an der isolierten Lunge des sensibilisierten Meerschweinchens beschrieben wurde. Sollten sich die Befunde Warnants bestätigen lassen, so wäre die schockhemmende Wirkung kleiner Cardiazolgaben ausreichend erklärt. Die schocksteigernde Wirkung hoher Cardiazoldosen erscheint uns besonders bemerkenswert, da sie nicht nur im Einklang mit der bekannten antagonistischen Wirkung der Analeptica auf Narkotica, sondern auch im Einklang mit den Befunden unserer oben zitierten Permeabilitätsmessungen steht.

VII. Besprechung der Ergebnisse.

Während wir durch die Wirkung verschiedener Narkotica eine ausgeprägte Schockhemmung erzielen konnten, sahen wir im Gegensatz hierzu nach Einwirkung hoher Cardiazolgaben eine Steigerung der anaphylaktischen Reaktion. Es erscheint in der Tat sehr reizvoll, Permeabilitätsveränderungen für die Erklärung der von uns beobachteten Beeinflussung der anaphylaktischen Reaktion heranzuziehen. Während die reversible Verminderung der Zellgrenzflächenpermeabilität unter Narkoticawirkung der Durchlässigkeitssteigerung im AS entgegenwirkt, wird die letztere durch die symbat verlaufende reversible Veränderung der Durchlässigkeit unter Analepticawirkung verstärkt und führt nun zu einer Steigerung der Schockintensität. Der von Krauss[50] ausgesprochene Satz, daß permeabilitätsvermindernde Pharmaka schockhemmend wirken, könnte hiernach von uns erweitert werden, indem wir hinzufügen: permeabilitätssteigernde Pharmaka steigern die Intensität der anaphylaktischen Reaktion. Es erscheint uns vorläufig noch verfrüht, Erörterungen über die Haltbarkeit dieser Theorie wie auch über die weitere Erklärung des Mechanismus der Schockhemmung und Steigerung anzustellen, bevor wir nicht weiteres experimentelles Beweismaterial beibringen können.

Der Mechanismus der Schockhemmung wird für den Tierversuch übrigens, wie wir schon weiter oben angeführt haben, durch die Wirkung der Narkotica auf die Bronchialmuskulatur befriedigend erklärt. Diese Erklärungsform schließt indessen nicht aus, daß bei dem Mechanismus der Schockhemmung zentrale Beeinflussungen u. a. eine Rolle spielen.

Bei dieser Gelegenheit möchten wir noch erwähnen, daß wir weitere tastende Versuche mit anderen Narkotica durchführten (Urethan, Chloralhydrat, Paraldehyd) in denen wir im wesentlichen dieselben Ergebnisse erheben konnten. Stets trat eine deutliche Schockhemmung ein, wenn im Moment der Antigen-

[57] Warnant: C. r. Soc. Biol. **101**, 491 (1929).

Antikörperreaktion eine genügend tiefe Narkose bestand. Die Versuche sind vorläufig zahlenmäßig zu gering, um schon für eine Verwertung zu verwenden zu sein, sie ergänzen jedoch zweifellos die Ergebnisse unserer bisherigen Untersuchungen.

Daß in unseren Versuchen mit Narkotica bzw. Analeptica die Antigen-Antikörperreaktion selbst stets stattgefunden hatte, zeigte uns die Prüfung der den Anaphylaxieversuch überlebenden Tiere. Diese erwiesen sich als ausnahmslos desensibilisiert. Wir kommen auf diese Beobachtung in einer weiteren Arbeit zurück, in der wir uns mit der Klärung des Wirkungsmechanismus der Schockbeeinflussung befassen werden.

Wie wir schon weiter oben erwähnten, sprechen verschiedene Beobachtungen dafür, daß zentrale Beeinflussungen eine Rolle bei der Schockhemmung durch Narkotica spielen. Für diese besteht offensichtlich eine gewisse Abhängigkeit der antagonistischen Wirkungsstärke von der Narkose-

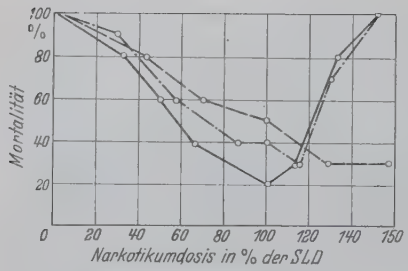


Abb. 1. Mortalität im anaphylaktischen Schock nach subcutaner Zufuhr äquieffektiver Dosen verschiedener Narkotica.

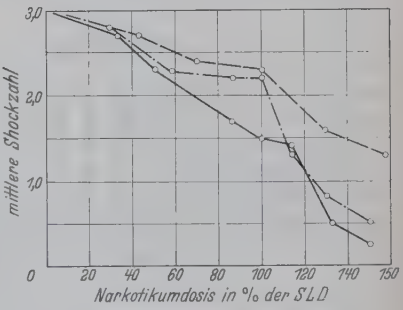


Abb. 2. Mittlere Schockzahl im anaphylaktischen Schock nach subcutaner Zufuhr äquieffektiver Dosen verschiedener Narkotica.

tiefe, ähnlich wie wir sie früher bei der Untersuchung der entzündungshemmenden Wirkung der Narkotica beobachten konnten[49]. Die antiphlogistische Wirkung der Narkotica erwies sich hierbei mit zunehmender Narkosetiefe als stärker ausgeprägt. Analog finden wir hier bei der Schockhemmung eine Zunahme der antagonistischen Wirkungsstärke mit steigender Narkoticumdosierung.

Vergleichen wir die schockhemmende Wirkung äquieffektiver Gaben der von uns benutzten Narkotica, so ergibt sich bei Beobachtung der Mortalität des Tiermaterials (Abb. 1), daß das Optimum der Gegenwirkung für Veronal und Pernocton im Bereich der SLD bzw. dicht darüber liegt. Während eine weitere Steigerung der Dosis bei diesen beiden Narkotica infolge der toxischen Wirkung zu einem Ansteigen der Mortalität führt, tritt eine optimale Mortalitätsverminderung nach Avertin erst nach Überseitenlagendosen auf. Hier finden wir noch nach der Zufuhr einer Gabe, die 50% über der SLD liegt, eine ausgezeichnete Gegenwirkung.

Untersuchen wir, in welcher Weise die mittlere Schockzahl in unseren Anaphylaxieversuchen durch Zufuhr äquieffektiver Narkoticumgaben ver-

ändert wird (Abb. 2), so ergibt sich, daß die Verminderung im Bereich der Überseitenlagendosen von Veronal und Avertin etwa die gleiche ist, da, wie wir früher sahen, in einem derart hohen Dosierungsbereich nach Veronal die Mortalität bereits wieder im Ansteigen begriffen ist, erweist sich hier die Wirkung des Avertins als überlegen. Die Verminderung der mittleren Schockzahl unter der Wirkung von Pernocton verläuft bis zur SLD etwa parallel der des Avertins, bleibt dann aber deutlich zurück.

Die Verminderung der mittleren Schockzahl (Schockintensität) besagt, daß die Erscheinungen des akuten AS, also besonders die Krämpfe und die Zeichen der Übererregbarkeit, abgeschwächt werden. Sie spricht zweifellos für eine zentrale Beeinflussung, wie wir sie für die Antagonistisierung der Wirkung zentralerregender Pharmaka kennen. Hierfür spricht weiterhin auch der Befund, daß Cardiazolgaben, die zu einer Steigerung der Erregbarkeit führen, nicht nur zu einer Erhöhung der Mortalität im AS, sondern auch zu einer Steigerung der mittleren Schockzahl Anlaß geben.

Fragen wir uns, welche Anforderungen an ein Narkoticum zu stellen sind, dem eine optimal hemmende Wirkung auf den AS zukommen soll, so können wir auf Grund unserer Versuchsergebnisse im wesentlichen 2 Forderungen herausstellen: 1. Die narkotische Wirkung muß sehr schnell eintreten. 2. Die narkotische Wirkung muß genügend lang anhalten. Bezüglich des genügend schnellen Wirkungseintritts konnten wir zeigen, daß durch i. v. Zufuhr von Basisnarkotica, deren Wirkung unmittelbar nach der Injektion eintritt, sehr gute therapeutische Erfolge zu erzielen sind. Um bei Verwendung derartiger Basisnarkotica eine genügend lange Wirkung erzielen zu können, wird eine Kombination mit länger wirkenden Narkotica in Betracht zu ziehen sein. Die Gegenwirkung besonders schnell wirkender peroral zugeführter Narkotica vom Typus des Evipans wird in einer anderen Arbeit geprüft.

Der Tatsache, daß es gelingt, den tödlichen AS durch Zufuhr von Narkotica zu verhindern, dürfte zweifellos eine gewisse praktische Bedeutung zukommen. Es erscheint uns hierbei wichtig, darauf hinzuweisen, daß nach unseren experimentellen Erfahrungen für eine derartige Behandlung Narkoticumdosen notwendig sind, die zu einer genügend tiefen Narkose führen. Auf Grund unserer Versuchsergebnisse kann angenommen werden, daß mit einer derartigen Therapie gute Erfolge erzielt werden dürften. Sind doch die im Vergleich zu den von uns verwendeten Antigenmengen die im AS am Menschen im allgemeinen zur Wirkung gelangenden Antigendosen sicher bedeutend geringer, so daß auch eine Antagonisierung ihrer Schockwirkung bedeutend leichter gelingen dürfte.

Die naheliegende Frage, ob die Zufuhr von Analeptica vom Typus des Cardiazols im AS kontraindiziert ist, kann verneint werden. Die zur zentralen Stimulierung des Kreislaufs verwendeten Cardiazolgaben liegen sicher weit unter den Dosen, die in unseren Experimenten zu einer deut-

lichen Verstärkung des AS führten. In niederem Dosierungsbereich erwies sich aber das Cardiazol in seiner Wirkung auf die Mortalität als günstig wirksam.

Zusammenfassung.

1. Der durch intravenöse Reinjektion an der aktiv sensibilisierten Maus ausgelöste anaphylaktische Schock wird durch vorherige Zufuhr von Veronal, Pernocton und Avertin gehemmt. Es kommt hierbei sowohl zu einer statistisch gesicherten Verminderung der Mortalität, als auch zu einer Abschwächung der Schockintensität.

2. Die antagonistische Wirkungsstärke vergrößert sich mit steigender Narkoticumdosis. Sie erreicht nach Zufuhr der SLD und eventuell höherer Gaben ein Optimum.

3. Erfolgt die Narkoticumgabe erst nach der Reinjektion des Serums, so wird eine Schockhemmung durch intravenöse Zufuhr der Basisnarkotica Eunarcon und Pernocton erzielt.

4. Der durch intraperitoneale Reinjektion des Serums ausgelöste protrahierte anaphylaktische Schock wird durch Vorbehandlung mit Veronal und Pernocton gehemmt.

5. Um eine sichere Schockhemmung zu erzielen, muß im Moment, in dem die Antigen-Antikörper-Reaktion ausgelöst wird, die narkotische Wirkung vorhanden sein.

6. Kleine Gaben von Cardiazol vermindern die Mortalität im Anaphylaxieversuch, führen aber zu keiner nachweisbaren Abschwächung der anaphylaktischen Reaktion.

7. Hohe Cardiazoldosen (Krampfdosen) steigern die Mortalität.

8. Es wird der den beobachteten Vorgängen der Schockhemmung und Schocksteigerung zugrunde liegende Wirkungsmechanismus diskutiert.

4UB 212